

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA – UFU

FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA

GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JULIANA NUNES DE MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MORANGOS RECOBERTOS COM
DIFERENTES FILMES BIODEGRADÁVEIS DURANTE SUA ‘SHELF-LIFE’**

PATOS DE MINAS - MG

JUNHO DE 2016

JULIANA NUNES DE MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MORANGOS RECOBERTOS COM
DIFERENTES FILMES BIODEGRADÁVEIS DURANTE SUA “SHELF-LIFE”**

Monografia apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel no curso de Graduação em Engenharia de Alimentos – Campus Patos de Minas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vivian Schmidt.

PATOS DE MINAS - MG

JUNHO DE 2016

JULIANA NUNES DE MENDONÇA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE MORANGOS RECOBERTOS COM
DIFERENTES FILMES BIODEGRADÁVEIS DURANTE SUA ‘SHELF-LIFE’**

Monografia apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel no curso de Graduação em Engenharia de Alimentos – Campus Patos de Minas.

Banca de Avaliação:

Prof^a. Dr^a. Vivian Consuelo Reolon Schmidt
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Marta Fernanda Zotarelli
Membro

Prof. Dr. Guilherme Ramos Oliveira e Freitas
Membro

Patos de Minas (MG), 17 de junho de 2016.

Dedico a todos aqueles que fizeram o meu sonho real, me proporcionando forças para que eu não desistisse de ir atrás do que eu buscava para minha vida. Muitos obstáculos foram impostos para mim durante esses últimos anos, mas graças a Deus e a cada um dos que me apoiaram eu não fraquejei. Dedico em especial àqueles que acreditaram que eu não seria capaz de chegar até aqui, porém com muita força de vontade, muito incentivo, ajuda, apoio e carinho de muitos colegas, amigos e familiares isto está sendo possível.

AGRADECIMENTOS

A Deus, eterno! Que com sua grandeza e bondade nos deu o dom da vida, e mesmo com todas as dificuldades deu-me sempre muita força e coragem para batalhar por meus objetivos.

Aos meus pais, Irani e Jesumiro, pelo amor incondicional e que me deram total apoio, base para que eu pudesse caminhar e ser a pessoa que hoje sou, mostrando sempre qual o melhor caminho a seguir.

Às minhas irmãs, Eunice e Sinara, que estavam sempre presentes quando necessário dando apoio e se mostrando sempre companheiras.

Agradeço aos meus sobrinhos Davi, Lorrany e Tiago, que apesar das bagunças na hora dos meus estudos, me fizeram perceber o quanto o apoio familiar é importante.

A todos os familiares, em especial à minha prima Elis Regina, pelo incentivo e por não me deixar desistir.

À professora e Dra. Vivian Schmidt, pela orientação, ensinamento e paciência durante toda a execução deste trabalho, sempre disposta a ensinar-me e tirar todas as dúvidas que surgiam.

A todos os professores que passaram durante a graduação, pelos ensinamentos, amizade e palavras de incentivo, em especial àqueles que de alguma forma tornaram possível a conclusão deste trabalho.

A toda a equipe do Laboratório de Análise Sensorial, Laboratório de Química de Alimentos, Laboratório Instrumental e Laboratório de Microbiologia, pela presteza, apoio e carinho com que me receberam.

Aos meus colegas e amigos da faculdade, em especial Isabela Coelho, Laysa Rodrigues e Tainá Oliveira, que além de companheiras de sala e amigas do coração, nunca mediram esforços para me incentivar e apoiar na realização não só deste trabalho, mas de outros também.

À Marcela Silva, que contribuiu significativamente para a realização deste trabalho.

À Fátima Bontempo, que além de amiga, a tenho como mãe, por fazer a correção deste trabalho e sempre me incentivar.

A todos os meus amigos, em especial a Elaine e Dalilla, pelos momentos de alegria, carinho, apoio e torcida.

A todos que não foram citados, mas lembrados, que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, obrigada.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

RESUMO

As perdas de frutas no pós-colheita tendem a elevar o custo dos produtos e reduzir a oferta ao consumidor, sendo estas as principais causas: a colheita, o transporte, a manipulação e o armazenamento inadequados. A aplicação de filmes e coberturas comestíveis, junto com a redução da temperatura de armazenamento cria um dos métodos mais empregados para a conservação pós-colheita de produtos com baixa vida útil, como frutas e hortaliças. O morango é um fruto muito delicado, saboroso e consumido preferencialmente in natura, com isto, torna-se favorável a utilização de revestimentos comestíveis com a finalidade principal de aumentar o tempo de armazenamento e comercialização, inibindo o crescimento microbiano. O objetivo deste trabalho foi avaliar as qualidades físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de morangos recobertos com diferentes filmes biodegradáveis em 19 dias de armazenamento. Os testes microbiológicos foram realizados nos dias 0, 3, 7, 10, 15 e 19, na intenção de controle de qualidade para acompanhamento do processo de deterioração e comportamento do fruto ao longo dos dias estocados. A contagem padrão de aeróbios mesófilos foi realizada em ágar para contagem padrão (PCA) com incubação a $36 \pm 0,5$ °C por 48 ± 3 horas. A contagem de psicotrópicos foi realizada em ágar PCA e incubando a 0-10 °C por 7 a 8 dias. A contagem padrão de fungos e leveduras foi realizada por espalhamento em ágar PDA e incubação a 25 °C por 5 dias. Os coliformes foram determinados pela técnica do NMP, em caldo Bile Verde Brilhante (BVB), para confirmar coliformes totais a 37°C, e caldo Escherichia coli (EC), para confirmar coliformes a 45 °C, ambos por 48 horas. Foram avaliados a presença de Salmonella sp. e as seguintes características físico-químicas: perda de massa, pH, sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável, índice de maturação, atividade de água, análise de textura e sensorial. Ao longo do armazenamento houve perda de massa fresca. Não houve diferença significativa na alteração do pH nos dias de armazenamento. Na acidez titulável houve uma variação de 0,017 g de ácido cítrico/100 g de amostra. Morangos recobertos com amido obtiveram maior valor de maturação, isto implica melhor aceitabilidade ao paladar do consumidor. O teor de sólidos solúveis não foi influenciado pelas coberturas. O fator físico-químico mais afetado foi a firmeza, porém houve grande resistência dos morangos recobertos com coberturas comestíveis. Os morangos recobertos com filmes comestíveis tiveram melhor aceitabilidade que os morangos sem cobertura. O resultado para Salmonella sp foi ausente em todas as amostras analisadas. Os morangos recobertos com filmes de amido adicionado de monascus e sorbato de potássio obtiveram resultados mais satisfatórios em relação aos demais.

Palavras-chave: Morangos, coberturas comestíveis, “shelf-life”, microbiologia.

ABSTRACT

The postharvest losses of fruit tend to raise the price of products and reduce the supply to consumers. The main causes of losses are: harvesting, transportation, handling and inappropriate storage. The application of edible films and coverings along with storage temperature reduction creates one of the most used methods for postharvest preservation of products with low shelf life like fruits and vegetables. Strawberry is a very delicate fruit, tasty and preferably consumed in natura, thus, becomes favourable the use of edible coverings with the main purpose of increasing the storage life and marketing, inhibiting microbial growth. The present study was aimed to evaluate and classify the bacterial growth in covered strawberries with biodegradable films of starch acetate and cassava starch, added monascus and potassium sorbate in 19 days of storage with an average temperature of 7 °C. Microbiological tests were performed on days 0, 3, 7, 10, 15 and 19, intending to quality control to monitor the deterioration process and fruit behavior over the stored days. Aerobic mesophile count was in traditional plate count agar (PCA) incubated at 36 ± 0.5 °C for 48 ± 3 hours. The psychotropic count was in PCA agar incubated at 0-10 °C for 7 to 8 days. The standard fungi and yeasts counts were done by spreading on PDA agar incubated at 25 °C for 5 days. Coliforms were determined by the NMP technique in Brilliant Green Bile Broth (BVB) to confirm total coliforms at 37 °C, and Escherichia Coli Broth (EC) to confirm coliforms at 45 °C for 48 hours both. Were evaluated the presence of Salmonella sp. and the following physicochemical characteristics: weight loss, pH, soluble solids (°Brix), titratable acidity, maturation index, water activity, texture and sensory analysis. During the storage, there was fresh mass loss. There was no significant difference in the change in pH in the days of storage. In the titratable acidity was a variation of 0.017 g citric acid / 100 g of sample. Strawberries coated with starch obtained higher maturity value, this implies a better consumer taste acceptability. The soluble solids content was not influenced by the covers. The most affected physicochemical factor was the firmness, but there was great resistance of the covered strawberries with edible coatings. The results with strawberries coated with edible films had better acceptability than strawberries without coverage. The result for Salmonella sp was absent in all samples. Microbiological analyzes got better results in strawberries coated with films added monascus starch and potassium sorbate for total coliforms at 45 °C were present in all samples with and without coverage.

Key words: Strawberries, edible coverings, "shelf life", microbiology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fotografia do estágio de maturação do morango.....	20
Figura 2 - Fotografia da caixa de papelão para comercialização dos morangos	25
Figura 3 - Embalagem desenvolvida para os morangos	26
Figura 4 - Embalagem em formato 3D para manga, mamão e caqui	26
Figura 5 - Estrutura química da amilose.....	30
Figura 6 - Estrutura química da amilopectina	31
Figura 7 - Gelatinização do amido	32
Figura 8 - Retrogradação do amido	32
Figura 9 - Processo de produção e fermentativo para a produção do pigmento Monascus	36
Figura 10 - Estruturas química dos principais pigmentos produzidos por espécies de Monascus.....	37
Figura 11 – Foto dos Morangos selecionados em 5 amostras	43
Figura 12 - Foto dos morangos dispostos na grade metálica.....	46
Figura 13 – Foto dos morangos secos, prontos para o armazenamento	46
Figura 14 – Foto dos morangos recobertos com coberturas comestíveis e sem cobertura armazenados na geladeira.....	47
Figura 15 - Valores hedônicos para atributos das amostras de morangos após 3 dias de armazenamento	56
Figura 16 - Valores hedônicos para atributos das amostras de morangos após 10 dias de armazenamento	56
Figura 17 – Resultado final após 19º dia de armazenamento	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização físico-química dos morangos	52
Tabela 2 – Crescimento de bactérias Mesófilas nos 19 dias de armazenamento, dados apresentados em UFC g ⁻¹	59
Tabela 3 – Crescimento de bactérias Psicotróficas nos 19 dias de armazenamento, dados apresentados em UFC g ⁻¹	59
Tabela 4 – Crescimento de Enterobactérias nos 19 dias de armazenamento, dados apresentados em UFC g ⁻¹	60
Tabela 5 - Crescimento de Fungos Filamentados e Leveduras nos 19 dias de armazenamento, dados apresentados em UFC g ⁻¹	61
Tabela 6 – Presença e ausência de Salmonella sp, positivo ou negativo para Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes	63

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	IV
RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
LISTA DE FIGURAS	Erro! Indicador não definido.
LISTA DE TABELAS	Erro! Indicador não definido.
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVO GERAL.....	18
2.1. Objetivos específicos.....	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1. Morango	19
3.1.1. Transformações químicas durante o amadurecimento.....	22
3.1.2. Modificações na parede celular durante o amadurecimento.....	22
3.2. Embalagens.....	24
3.3 Coberturas e biofilmes comestíveis e biodegradáveis.....	27
3.4. Matérias-primas utilizadas na formulação de biofilmes comestíveis.....	29
3.4.1. Amido.....	30
3.4.2. Pigmento Monascus.....	33
3.5. Estudo da qualidade de morangos	38
3.5.1. Aparência	38
3.5.2. Acidez titulável (AT) e pH	39
3.5.3. Sólidos solúveis e açúcares	39
3.5.4 Vitamina C.....	40
3.5.5 Antocianinas	40
3.6. Microrganismos da microbiota natural do morango	41

4. METODOLOGIA.....	43
4.1. Seleção dos morangos	43
4.2. Preparo do acetato de amido.....	44
4.3. Preparação dos filmes.....	44
4.3.1 Amido.....	44
4.3.2. Acetato de Amido.....	44
4.3.3. Sorbato de Potássio.....	45
4.3.4. Monascus.....	45
4.4. Aplicação dos filmes comestíveis e acondicionamento dos morangos	45
4.5. Análises físico-químicas durante a estocagem	47
4.5.1. Determinação de pH.....	47
4.5.2. Acidez total titulável	48
4.5.3. Sólidos solúveis (°Brix)	48
4.5.4. Índice de maturação	48
4.5.5. Atividade de água	49
4.5.6. Umidade	49
4.5.7. Análise de textura	49
4.5.8. Análise Sensorial.....	49
4.6. Análises Microbiológicas	50
4.6.1. Quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos	50
4.6.2. Quantificação de fungos filamentados e leveduras	50
4.6.3. Quantificação de enterobactérias	51
4.6.4. Quantificação de coliformes totais e termotolerantes.....	51
4.6.5. Presença ou ausência de Salmonella sp.....	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1. Caracterização físico-química	52
5.2. Análise Sensorial	55

5.3. Análises Microbiológicas	58
6 – CONCLUSÃO.....	65
ANEXOS.....	66
REFERÊNCIAS	67

1. INTRODUÇÃO

As frutas, no geral as de clima tropical como as brasileiras, ao serem colhidas têm seu momento de maturação acelerada e conseqüentemente sua deterioração. Isso ocorre por consequência de fatores bioquímicos e fisiológicos da fruta bem como ausência de boas práticas de manipulação e acondicionamento inadequado (COSTA, 2009).

O morango é um fruto bastante delicado, com alta sensibilidade ao dano mecânico (lesões), proliferação de microrganismos como os fungos, perda de água e de firmeza. Essas alterações reduzem a qualidade global do fruto, tendo uma queda na aceitação e limitando sua vida útil (COSTA, 2009). Para manter o fruto por um determinado tempo in natura, a refrigeração é uma das principais formas de conservação utilizada, baseando na conservação do fruto através da diminuição da taxa respiratória e da atividade metabólica e, conseqüentemente retardando sua senescência.

Costa (2006) ressaltou que sem o uso da refrigeração, as deteriorações são aceleradas devido à alta taxa metabólica, com perda de aroma, sabor, textura, cor, crescimento microbiano e depreciação de outros requisitos de qualidade. Assim, a taxa metabólica deve ser conservada em nível mínimo e suficiente para manter as células vivas, de modo a conservar a qualidade dos produtos durante todo o período de armazenamento. Isto reduz a atividade microbiana e enzimática do fruto, mantendo a qualidade do produto e aumentando a segurança para o consumidor.

A maior parte dos frutos em geral é comercializada in natura, arranjadas em bandejas de poliestireno expandido, cobertas com filme de policloreto de vinila (PVC) maleável ou em embalagens de polietileno teraftalato (PET). Podem ser encontradas nos comércios e feiras para venda, sob refrigeração ou à temperatura ambiente (a qual aumenta o nível de proliferação de microrganismo e reduz a vida de prateleira). As embalagens são de suma importância, pois atuam complementando os processos de conservação dos morangos, sobretudo, pela restrição à perda de vapor de água, o que resulta em perda de massa, e conseqüentemente, redução de peso do produto (COSTA, 2009).

Sendo assim, para aumentar o shelf-life dos alimentos, inclusive dos morangos, geralmente aplicam-se processos químicos ou físicos. Com isto, nos últimos anos apareceu no mercado novos tipos de embalagens, as chamadas biodegradáveis, bioativas e até mesmos os comestíveis. Isto tem ocorrido pela grande procura por alimentos com embalagens ecologicamente corretos.

Outro fato é o descarte incorreto de materiais não renováveis, que levam milhares de anos para ser absorvido pelo meio ambiente. Para amenizar um pouco estes problemas, desenvolveram os filmes e biofilmes com matérias-primas renováveis que são utilizadas no lugar de materiais sintéticos ou a base de petróleo (RIGO, 2006). No entanto, há barreiras na substituição das embalagens comuns por filmes biodegradáveis, pois é difícil manter as mesmas características, entre elas, eficácia, qualidade, permeabilidade à água, a gases e à vida de prateleira.

Rigo (2006) defende que coberturas e filmes comestíveis podem ser heterogêneos em natureza, podendo ser obtidos de misturas de proteínas, polissacarídeos e ou lipídeos. Isto faz com que eles apresentem diversas características funcionais, tais como:

- Propriedades mecânicas (flexibilidade e resistência mecânica);
- Propriedades de barreira (permeabilidade ao vapor de água, O₂ e CO₂);
- Propriedades óticas (cor e opacidade);
- Propriedades sensoriais;
- Solubilidade em água.

Tais propriedades dependem do biopolímero utilizado (polaridade, peso molecular, conformação, distribuição de cargas), das condições de fabricação (pH, tratamento térmico, tipo e teor de aditivos), das condições do ambiente (temperatura e umidade relativa), relevantes por causa do gênero higroscópico e plastificante utilizados (RIGO, 2006).

Vale ressaltar que atualmente há poucos biofilmes e coberturas comestíveis que podem substituir as embalagens primárias feitas de materiais sintéticos. Assim, os biopolímeros são mais usados como embalagens secundárias e/ou terciárias. As coberturas comestíveis são usadas para melhorar a qualidade dos alimentos, a expansão do **shelf-life** e possivelmente melhorá-los economicamente. Neste sentido, devem ter funções semelhantes aos filmes de embalagens sintéticas, tais como: barreira à umidade, oxigênio e transmissão de solutos.

Além da preocupação com a embalagem mais adequada para conservação de hortícolas, há outro fator que interfere na vida útil destes produtos, que é a microbiota natural. Assim, todos os alimentos possuem uma microbiota natural muito variável, acumulado principalmente na superfície do mesmo (fatores intrínsecos). Na parte interna, o ideal é que não apresentem nenhuma forma viável microbiana. Alimentos processados e manipulados são susceptíveis à contaminação por microrganismos indesejados, que ocorre através de manipulação inadequada, contato com equipamentos, superfícies e utensílios, pela atmosfera,

e no caso do morango contato com a terra que é um grande contaminante (fatores extrínsecos) (VALSECHI, 2006). Porém, os microrganismos necessitam de condições favoráveis para seu crescimento e o morango oferece todos os requisitos como umidade relativa, temperatura e nutrientes. Bolores, leveduras e as bactérias são os microrganismos de maior potencial neste fruto. Entre eles estão os coliformes totais e termotolerantes, *Samonella* sp, microrganismos aeróbicos psicrotróficos (ALCÂNTARA, 2009).

Neste contexto, a aplicação de filmes contendo agentes antimicrobianos como o Monascus e Sorbato de Potássio apresentam vantagens em relação aos métodos tradicionais de conservação dos alimentos, porque estes agentes podem ser liberados de maneira controlada, estando em menor quantidade no alimento e atuando na superfície do mesmo. Também pode ocorrer a inibição ou redução da atividade antimicrobiana, quando adicionado de forma tradicional por diversas substâncias do próprio alimento (MOREIRA, DEL PINO, VENDRUSCOLO, 2001).

O Monascus é um pigmento natural produzido por algumas espécies do fungo filamentoso Monascus, que é obtido por processos biotecnológicos e que apresentam tonalidades que variam entre vermelho, amarelo e laranja por processos biotecnológicos. A produção de pigmentos orgânicos por microrganismos dentre eles, microalgas, leveduras e fungos filamentosos, são alternativas ao aumento da produção destes compostos naturais frente aos sintéticos (MOREIRA, DEL PINO, VENDRUSCOLO, 2001).

A utilização do fungo Monascus é muito difundida no Japão, China, Indonésia, Índia e Coreia. O corante produzido por este fungo é muito usado nestes países na culinária para coloração de arroz, peixes, vinhos e bebidas (HAJJAJ et al., 2000). Ainda ser promissora na utilização de coloração de produtos cárneos em substituição aos sais de nitrito que conferem coloração vermelha e, ao mesmo tempo, resultam na produção de nitrosaminas, compostos que possuem efeitos cancerígenos (FINK-GREMMELS, DRESEL, LEISTNER, 1991; KILIKIAN, OROZCO, PEREIRA, 2003).

Além de pigmentos, estes microrganismos produzem outras substâncias como, proteínas, aminoácidos, terpenos, lipídeos, fitoesteróis e isoflavonas, compostos antimicrobianos, amilase, glico amilase, ácidos orgânicos e ácidos graxos, antioxidantes, álcoois, cetonas e vitaminas. Aplicações cardiovasculares, anti-inflamatórias, digestivas e gastrintestinais, no combate ao câncer e disfunções orgânicas têm sido citadas na literatura (MORITZ, 2005, WANG, et al., 2002).

Já o antifúngico sorbato de potássio é um sal de potássio do ácido sórbico, conservante fungicida e bactericida, inibidor de crescimento de bolores e leveduras, extensivamente

utilizado na alimentação como conservante. O ácido sórbico encontra-se em forma natural em alguns frutos, contudo utiliza-se o sorbato de potássio na indústria alimentar, porque é mais solúvel em água que o ácido sórbico.

Assim, o ácido sórbico impede rancidez e mofo em margarinas e maioneses. Muito utilizado também na produção de queijos de corte, frescos e fundidos. Além de ser usado para evitar a formação de mofo e bolores, ainda é empregado no segmento de bebidas, molhos, doces, refrigerantes, frutas secas, panificação entre outras aplicações. Quando usado em produtos cujo pH é ligeiramente ácido (pH 5,5-6,0) o sorbato de potássio é o agente conservante mais eficaz contra uma ampla faixa de microrganismos.

Vale ressaltar que a literatura relata diversos estudos voltados para pesquisa e desenvolvimento de filmes e coberturas comestíveis para frutas e hortaliças (JUNIOR, 2011; NEETA, 20013; RIGO, 2006; VELICKOVA, et al., 2013), entre outros; estes visam o melhoramento de algumas características como o aumento do tempo de vida útil dos frutos e hortaliças.

Percebe-se, então, que são muitas as vantagens inerentes à utilização de biopolímeros como substitutos de filmes plásticos, assim como, sua possível utilização como revestimentos comestíveis em frutas e hortaliças, com a adição de um pigmento natural que propicie ação antimicrobiana. Neste contexto vê-se a possibilidade de desenvolvimento de filmes de acetato de amido com adição de *monascus* com atividade antimicrobiana em hortifrutigranjeiros, como o morango.

2. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento dos principais microrganismos em morangos recobertos com filmes biodegradáveis com amido, acetato, monascus, e sorbato em 19 dias de armazenamento, considerando a RDC nº 12/01 (BRASIL, 2001). Foi avaliado o crescimento de psicotróficos, mesófilos, enterobactérias, fungos e bolores, presença de coliformes totais e fecais e *Salmonella* sp.

2.1. Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Caracterizar os morangos no primeiro dia de teste com análises físico-químicas: pH, sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável, índice de maturação, atividade de água (A_w), umidade e análise de textura.
- Avaliar a aceitação dos morangos pelo consumidor durante os dias de armazenamento dos frutos. Para isso foi realizada análise sensorial nos dias 3 e 10 de armazenamento.
- Avaliar as condições microbiológicas para o consumo do produto, através das análises microbiológicas da quantificação de: mesófilos e psicotróficos, fungos filamentados e leveduras, enterobactérias e coliformes termotolerantes. A ausência e presença de *Salmonella* sp também foi avaliada.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Morango

O morangueiro pertence à família da Rosácea, do gênero *Fragaria* e possui em media dezoito espécies e quatro híbridos. O mais cultivado hoje é a espécie *Fragaria x ananassa*. No início do seu cultivo era utilizado para fins medicinais e ornamentais nos jardins europeus, no entanto hoje, vem sendo cultivado em todo o mundo. E isto é possível devido ao melhoramento genético, e adaptações às variedades de cultivos (SILVA, 2010).

O cultivo do morangueiro no Brasil teve início no ano de 1958, quando um agricultor do Sul de Minas Gerais, que vendia hortaliças em São Paulo trouxe mudas e, plantou na região do Vale do Rio do Peixe, em Estiva, deixando ali no Estado as primeiras variedades da fruta (EMATER, 2011).

O morango (*Fragaria x ananassa* Duch), classificado como pequenos frutos é o que apresenta maior área plantada e maior volume de produção no Brasil (EMBRAPA, 2012). A cultura brasileira de morangos possui ampla distribuição. De acordo com dados da Empresa de Assistência Técnica e Expansão Rural (EMATER, 2011), Minas Gerais aparece como o maior produtor do país, com 72 mil toneladas em 1.790 hectares. Minas Gerais representa quase 55% da produção nacional, abrangendo algumas outras áreas como Rio Grande do Sul, São Paulo, dentre outras.

O morangueiro tendo aptidão para climas mais amenos, não tolerando temperaturas altas (DAROLT, 2008). Uma planta herbácea, com raízes e caules, atinge entre 15-30 cm de altura, formando touceiras, tendo flores hermafroditas normalmente e inflorescência tipo cimeira (JUNIOR, 2011), o morango é classificado como pseudofruto ou infrutescência.

O morango é um fruto não climatérico que pode ser colhido em diferentes fases de maturação. Na figura 1, está apresentada uma fotografia do estágio de maturação do morango. O consumidor tem preferência por ele maduro, bem vermelho e suculento. No entanto, os índices de maturação, bem como o tempo de colheita variam com o cultivar, com a localização e condições climáticas. Frutos verdes são mais propensos a murchamento e lesões físicas, e o sabor tem má qualidade quando amadurecem. Frutos maduros são mais macios e com sabor insípido logo após a colheita. Frutos colhidos, cedo ou tarde em sua estação, são mais suscetíveis a distúrbios fisiológicos pós-colheita de frutos colhidos durante a fase adequada de maturidade.

Figura 1 – Fotografia do estágio de maturação do morango



Fonte: Google imagens.

Darolt (2008) ressalta as principais regiões produtoras do sul do Brasil onde a colheita é feita de agosto a dezembro, com pico entre final de setembro e início de novembro. É nesse período que o morango fica com um sabor incomparável. Entretanto, nos últimos anos, o morango ultrapassou sua forte característica de fruta estacional, ou seja, a safra que era produzida uma vez ao ano, durante o final do inverno e da primavera, sofreu modificações com a introdução de inovações aliada à evolução da tecnologia de produção da fruta (túneis, adubação, manejo, entre outros). O fato é que hoje, pode-se consumir morango durante todos os dias, em quase todas as cidades brasileiras.

O método de colheita do morango é sutil. Após a remoção de morangos estragados e a seleção por tamanho, os morangos são colocados em embalagens plásticas com capacidade variável de acordo com o mercado. Os frutos pequenos ou com pequenas imperfeições que não prejudiquem sua qualidade, são designados à fabricação de polpa ou à venda para industrialização (DAROLT, 2008).

Morangos com dimensões mais regulares, grandes e de cor vermelha intensa são os favoritos pelos consumidores no requisito aparência e morangos mais doces são os favoritos no requisito sabor. O consumidor opta pelo morango principalmente pelo sabor, depois pela aparência. Por isso, o aspecto mais valorizado no morango é a doçura (DAROLT, 2008).

Os morangos são poderosa fonte de compostos bioativos, em virtude de níveis grandiosos de vitamina C, vitamina E, β -caroteno e compostos fenólicos como antocianinas, substâncias relacionadas aos benefícios da saúde. Eles possuem um alto nível de atividade antioxidante e consequentemente, tem efeito benéfico em relação à manutenção da saúde dos consumidores (NEETA, 2013).

Segundo Alves (2009), o morango é uma fruta importante, abundante em frutose e sacarose e desprovido em carboidratos. Ingerido de forma balanceada, ocorre reações químicas que aumentam em três vezes a absorção do ferro presente nos vegetais, ovos e carnes, isto em uma dieta balanceada, pois é considerado como um laxativo e diurético leve. Fornecem minerais e vitaminas do Complexo B e contem quercitina, que é responsável por neutralizar radicais livres, os quais atuam no envelhecimento das células.

A vida útil de um morango colhido é influenciada pela temperatura de armazenamento. Sua durabilidade pode variar de apenas 1 dia se armazenado em temperatura superior a 20 °C, por dois a três dias, a 12 °C, de três a quatro dias, a 6 °C e de cinco a dez dias se a 0 °C, isto com umidade relativa entre 90 a 95% (SILVA, 2010).

Sua vida de prateleira é bem pequena, isto porque o morango dispõe de uma alta taxa transpiratória que gira em torno de 15 mg de CO₂ kg/h, a 0 °C com isto fica propício a uma rápida deterioração pós-colheita na temperatura ambiente. Se houver uma elevação de 10°C na temperatura aumenta sua taxa de respiração 5 vezes e o amadurecimento eleva essa taxa em até 50% (ALVES, 2009).

O morango, por ter uma vida de prateleira baixa, necessita de alguns cuidados na colheita e quanto aos tipos de embalagens. Os frutos devem ser retirados dos morangueiros, preferencialmente, nas embalagens que irão para o mercado. Eles são pré-selecionados na hora da colheita para evitar o contato de frutas podres com frutas sadias (que contém inóculo de fungos), reduzindo a manipulação, e o risco de danos visíveis e não visíveis, que servirão como porta de entrada para microrganismos (EMBRAPA, 2005). No entanto, se não for possível realizar a colheita prontamente nas embalagens, os frutos devem ser colhidos em caixas próprias para colheita e levados rapidamente para o local de embalagem ou empacotadora, que deve ser mantida em perfeitas condições de higiene e livre de qualquer tipo de sujeira. Uma das práticas mais importantes é nunca despejar sem cuidado os frutos das cestas de colheita sobre a mesa de classificação, afinal o morango é um fruto extremamente sensível. Por isso, tem-se investido em novas embalagens e também em diferentes tipos de coberturas comestíveis.

3.1.1. Transformações químicas durante o amadurecimento do morango

O amadurecimento do fruto consiste de um conjunto de mudanças físicas, químicas e fisiológicas de cada espécie e até mesmo entre frutos do mesmo cultivo, variando as condições de produção e armazenamento (CHITARRA E CHITARRA, 2005). Alterações na composição seguem após a colheita dos frutos, podendo ser desejáveis ou indesejáveis. As características, como cor, textura, aroma e balanço entre quantidade de açúcar e acidez, são elementos fundamentais que determinam a qualidade do fruto. A deterioração da clorofila e a síntese de alguns pigmentos (carotenóides e antocianinas) são desejáveis e muito importantes, levando em conta que melhoram a qualidade geral do fruto (KLUGE et al., 2002).

Os carboidratos são modificados devido à conversão do amido em açúcares simples, processo desejável, porque eleva o grau de doçura. A solubilização das pectinas e de alguns outros polissacarídeos têm como resultado o amolecimento do fruto, e este conseqüentemente ficam mais propensos a injúrias mecânicas e aos patógenos que causam podridões. Modificações nos ácidos orgânicos, proteínas, aminoácidos e lipídeos podem influenciar o sabor e o aroma dos frutos. A perda de vitaminas, em especial do ácido ascórbico (vitamina C), prejudica a qualidade nutricional, no entanto a produção de compostos voláteis associada ao amadurecimento dos frutos é essencial para a qualidade sensorial (OLIVEIRA et al., 2006).

O sabor do morango é muito importante no padrão de qualidade requerido pelos consumidores, e isto ocorre pelo balanço açúcar/acidez do fruto, que ocorre pelo processo da biossíntese ou degradação de polissacarídeos existentes nos frutos, sendo uma parte destes constituintes consumidos pela oxidação respiratória. Uma das transformações químicas que merece destaque durante o amadurecimento dos frutos está associada à parede celular (SILVA, 2007).

3.1.2. Modificações na parede celular durante o amadurecimento

No amadurecimento, ocorre o processo atribuído à ação de enzimas pectinolíticas, pois a fração solúvel das substâncias pécticas aumenta na maioria dos frutos. Logo, ocorre o amaciamento, proveniente das mudanças no metabolismo dos carboidratos da parede celular, ocorrendo a perda de firmeza em minutos, resultando na redução líquida de alguns componentes estruturais. A perda de polímeros de ácido urônico é a mudança mais acentuada na composição da parede celular de frutos, seguida pelo aumento de poliuronídeos solúveis. Porém, uma perda líquida de resíduos de açúcares neutros não celulósicos ocorre durante o

amadurecimento de frutos como pera, maçã, morango, tomate, e também a solubilização da pectina (GROSS e SAMS, 1984; KLUGE et al., 2002).

A pectina solubilizada não é o único fator que afeta a firmeza ou que diferem frutos firmes de macios. A associação entre pectinas e outros polímeros afetam a sensibilidade à solubilização. Entretanto, o estudo relacionado a solubilidade de pectinas não deve ser desviado dos outros formadores da parede celular e suas interações possíveis (OLIVEIRA et al., 2006).

O aumento no volume celular reforça a complexa relação entre composição de carboidratos, propriedades físicas do morango e estrutura celular, aos quais seguem com o amadurecimento do fruto. A síntese líquida de poliuronídeos pode ocultar mudanças ocorridas nos polímeros pré-existentes da parede celular nesta fase (HUBER et al., 2001).

Estudos em relação à composição da parede celular do morango têm se fixado nas substâncias pécticas. A proporção de poliuronídeos solúveis, que é de 30% em frutos verdes, passando para 65% em frutos maduros (HUBER et al., 2001).

Durante o amadurecimento do morango ocorre mudança no plastídeo, aumento da hidratação, a desorganização da parede celular e a solubilização da lamela média e da matriz da parede. Porém, os fatores que determinam a qualidade e shelf-life no pós-colheita são a rapidez e a dimensão com que os frutos ficam macios e perdem firmeza no período do amadurecimento (MANNING, 1993).

Ocorre aumento na proporção de açúcares neutros associados com poliuronídeos solúveis, podendo destacar a ramnose e, em menor proporção arabinose e galactose, durante o amadurecimento do morango. Modificações nas ligações entre carboidratos e parede celular podem ocorrer durante o amadurecimento do fruto, mostrando o aumento dos açúcares, aos quais podem estar ligados à cadeia poligalacturônica via ramificações e ramnosil (GROSS e SAMS, 1984; HUBER et al., 2001).

Os polissacarídeos hemicelulósicos são degradados ou liberados das ligações interpoliméricas devido a um aumento nos resíduos de xilose, manose, glicose e na fração solúvel da parede celular dos morangos (SILVA, 2007). Porém, a perda líquida desses resíduos pode ocorrer devido à alterações na taxa de galactose e/ou arabinose do polímero, atingindo cerca de 30% nos morangos a perda desses açúcares (KLUGE et al., 2002).

As pectinas possuem papel importante não só como fatores primários no processo de amolecimento, mas também no metabolismo da célula (THÉ et al., 2001). No decorrer do amadurecimento, as transformações da protopectina em pectina, por meio de ação enzimática, sofre desmetilação e simplificação das cadeias, levando a solubilização e até a degradação

total, no período que a fruta já está muito madura (SILVA et al., 2009). Uma tendência natural é a solubilização de substâncias péctica durante o amadurecimento dos frutos. Porém um grande número de enzimas tem participação na degradação biológica das substâncias pécticas, no entanto, estas enzimas merecem estudos mais aprofundados.

3.2. Embalagens

De acordo com a Associação Brasileira de Embalagem (ABRE), (PELLEGRINO, 2016):

A embalagem é um recipiente ou envoltura que armazena produtos temporariamente, individualmente ou agrupado em unidades, tendo como principal função protegê-lo e estender o seu prazo de vida (*shelf life*), viabilizando assim, sua distribuição, identificação e consumo. (PELLEGRINO, 2016)

O consumidor é vigorosamente influenciado no momento da compra pela embalagem em que o produto está armazenado. É ela que preconiza, em apenas 3 segundos, a qualidade do produto ali exposto e os seus diferenciais, além de atrair o consumidor para depositá-lo em seu carrinho de compras (PELLEGRINO, 2016).

A embalagem apropriada é importante para que se evitem danos físicos e microbiológicos aos frutos. Estas embalagens devem apresentar características indispensáveis como: bom estado de conservação, limpas e não provocar alterações internas ou externas na fruta. As embalagens podem variar conforme o mercado de destino, porém de modo geral, utilizam-se caixetas (cumbucas) de madeira, papelão ou poliestireno expandido, caixas de plástico transparente com tampa ou uma embalagem com uma base de poliestireno e filme polimérico PVC, com capacidade variando entre 250-800 gramas de frutos. Em alguns países o morango é transportado em paletts, sendo este uma base de madeira de tamanhos determinados, onde são colocadas as caixas com as cumbucas de morango no seu interior (BRASIL, 2005).

Em 2009, o Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas do Rio de Janeiro (SEBRAE-RJ) teve a ideia de tornar os produtores da Associação dos Agricultores Familiares Produtores de Morango de Nova Friburgo e Adjacências (Amorango), na região Serrana do Rio de Janeiro, a mais concorrente no mercado. A Embrapa, Agroindústria de Alimentos e a ABRE, uniram-se na criação e desenvolvimento de uma nova embalagem para transportar e comercializar os morangos. Na figura 2, está apresentada a fotografia dessa caixa. As novas caixas aumentaram o lucro e reduziram as perdas causadas pelas caixas de madeira. As caixas de papelão, exclusivas para os frutos, as quais podem ser empilhadas sem causar danos aos frutos, teve valor final 10% a mais que as embalagens que se utilizavam antes, porém

resultados mais satisfatórios. Os produtores tiveram um ganho significativo com o desenvolvimento desta nova embalagem (SANTOS, 2009).

Figura 2 - Fotografia da caixa de papelão para comercialização dos morangos



Fonte: Sebrae, RJ.

Estas embalagens são as encontradas normalmente em grandes centros de distribuições, porém novos estudos e pesquisas estão sendo desenvolvidos. Este ano de 2016 a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), juntamente com outros órgãos desenvolveram um novo modelo de embalagem, produzidas de poliuretano e fibras de vegetais, tendo a finalidade de acompanhar o formato da fruta, evitando possíveis lesões durante o transporte. Estas embalagens devem estar no mercado em breve (EMBRAPA, 2016).

Segundo a EMBRAPA (EMBRAPA, 2016), as embalagens anatômicas, geram manutenção da qualidade sensorial, menor impacto mecânico, e aumento da vida útil das frutas. Esta embalagem foi projetada para algumas frutas, na figura 3 mostra a embalagem desenvolvida para os morangos. Dentre estas frutas estão manga, mamão, caqui, por possuírem diferentes tamanhos e formatos, elas foram escaneadas em formato 3D, para a criação da nova embalagem, a figura 4 representa o desenvolvimento dessas embalagens. Este novo formato diminui significativamente as injúrias mecânicas e faz com que os frutos tenham maior ventilação promovendo troca gasosa com o ambiente, prolongando o amadurecimento e elevando a vida útil dessas frutas. Além disso, essas embalagens são mais higiênicas e possuem proteção contra insetos principalmente para os morangos. Vale ressaltar que o material utilizado é mais degradável, reduzindo o impacto ambiental entre 10% a 30%.

Figura 3 - Embalagem desenvolvida para os morangos



Fonte: EMBRAPA (2016).

Apesar desta vantagem, esse tipo de embalagem pode sofrer resistência na utilização comercial pelo custo elevado desta tecnologia nova aplicada. A EMBRAPA (EMBRAPA, 2016), fala sobre os custos desta nova embalagem:

...há custos associados ao maior custo da fruta dentro de um sistema de embalagem que poderia ser o maior ponto de perda. Observamos a realidade de produção, inclusive a transformação nos mercados nacional e internacional, para que os custos de embalagem nas embalagens possam diminuir todos os pontos críticos do processo. (EMBRAPA, 2016).

Figura 4 - Embalagem em formato 3D para manga, maçã e abacaxi



Fonte: EMBRAPA (2016).

3.3 Coberturas e biofilmes comestíveis e biodegradáveis

O uso cada vez mais frequente de biofilmes e coberturas comestíveis tem a finalidade de prolongar a conservação de alimentos perecíveis, aumentando sua shelf-life (COSTA, 2009). Essas coberturas comestíveis ou embalagens para proteção dos alimentos são utilizadas há alguns anos, através de práticas antigas como: dessecação e trocas de gases de pedaços de carne cobertos com gordura; produtos de confeitaria cobertos com açúcar ou chocolate e até mesmo frutas recobertas com ceras (praticado na China desde o século XII). Porém, hoje há estudos mais recentes sobre o assunto devido às vantagens que estes filmes e coberturas promovem aos alimentos, inclusive ao morango (RIGO, 2006).

Nesse contexto, tais revestimentos são utilizados para aumentar o efeito na preservação da qualidade dos frutos e reduzir a deterioração microbiana, aumentando assim, a sua vida de armazenamento (PONCE, 2008). Velickova (2013) afirma que nos últimos anos, as coberturas comestíveis têm sido bastante estudadas e pesquisadas para a preservação de frutas e legumes. Sendo que elas são de fácil manuseio e amplamente aplicável em diversos frutos e legumes. O uso de recobrimentos tem fatores muito positivos, pois faz com que a taxa de respiração seja mais lenta, os períodos de armazenamento sejam prolongados, mantém a firmeza e o crescimento microbiano controlados. Com isso, as tentativas para reduzir as perdas de colheitas e manter a qualidade das frutas frescas, para um período maior, é uma prioridade para todos os produtores (RIBEIRO, 2007).

De acordo com os relatos de Costa (2009), os biofilmes podem ser de dois tipos:

- **Coberturas**, quando são aplicados diretamente na superfície dos alimentos,
- **Filmes**, quando possuem a capacidade de formar estruturas próprias independentes.

Ambos os termos podem ser definidos como uma fina camada contínua, formada ou depositada no alimento, preparada a partir de materiais biológicos, que agem como barreira a elementos externos (umidade, óleos e gases), protegendo o alimento e aumentando a sua vida de prateleira. No caso das coberturas, as formulações devem ser líquidas e capazes de se espalhar na superfície do produto (COSTA, 2009). Além disso, depois de secas, elas devem possuir adesividade, coesividade e durabilidade apropriadas para desempenhar sua função.

Coberturas e filmes comestíveis apresentam numerosas vantagens sobre a embalagem polimérica não comestível convencional. Além de apresentarem uma alternativa para redução da complexidade das embalagens para alimentos, se não forem consumidas com o produto

embalado, podem contribuir para a redução da poluição ambiental devido à sua natureza biodegradável (DEL-VALLE et al., 2005).

As coberturas e filmes comestíveis são definidos por dois princípios (COSTA, 2006):

1. O termo “comestível” implica nos compostos usados na elaboração da embalagem ser (generally recognized as safe) GRAS, sigla em inglês que significa compostos geralmente reconhecidos como seguros pelo ‘Food and Drug Administration’ (FDA), e processados dentro das Boas Práticas de Fabricação (BPF), estabelecidas para alimentos.
2. Estes filmes e revestimentos devem ser formados a partir de um biopolímero, já que é necessária uma cadeia longa para conferir insolubilidade e estabilidade à matriz da embalagem em meio aquoso.

Com base nestes princípios, no Brasil não existe no domínio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) uma legislação específica para filmes e revestimentos comestíveis, mas eles são considerados como ingredientes ou aditivos e devem obedecer ao Decreto 55.871, de 26 de março de 1965, sobre normas reguladoras de emprego de aditivos para alimentos, e à Portaria nº540-SVS/MS, de 27 de outubro de 1997, que trata sobre o Regulamento Técnico de Aditivos Alimentares e Coadjuvantes de Tecnologia de Fabricação, além das considerações do Codex Alimentarius e do FDA (VILLADIEGO et al., 2005; ANVISA, 1965).

Uma função importante desempenhada por estes tipos de embalagens é a redução da troca de vapor de água entre o produto e o ambiente. Pois a propriedade de barreira dos biofilmes depende tanto do coeficiente de difusão molecular quanto da solubilidade da matriz em água (SRINIVASAA; RAMESHB; THARANATHAN, 2007).

Sendo assim, compostos como polissacarídeos, que podem ser utilizados como matérias-primas para estes materiais biodegradáveis, em geral, em função de sua natureza hidrofílica, são sensíveis à umidade, apresentando alta permeabilidade ao vapor de água, o que poderia restringir sua aplicação (BERTAN; TANADA-PALMU; GROSSO, 2005).

Neste contexto, várias alternativas vêm sendo empregadas para melhorar as propriedades mecânicas e de barreira à água desses filmes, incluindo a incorporação de compostos hidrofóbicos de forma a aperfeiçoar a interação entre polímeros e a formação de ligações cruzadas (COSTA, 2009; PARK et al., 2001).

Contudo, a incorporação de aditivos (ex. plastificantes), agentes antioxidantes ou antimicrobianos podem reforçar algumas propriedades destes materiais, como as mecânicas e

protetoras (RIGO, 2006). Os antioxidantes são adicionados aos revestimentos comestíveis a fim de aumentar a estabilidade e conservar o valor nutricional e a cor dos produtos alimentares. Os dois tipos de antioxidantes alimentares mais utilizados em coberturas são os ácidos (incluindo os seus sais e éteres) e os compostos fenólicos (RIBEIRO, 2005).

Sendo assim, pode-se dizer que se devem conhecer bem as propriedades das matérias-primas utilizadas na formação dos biofilmes e coberturas comestíveis e os possíveis mecanismos ligados às propriedades dos biopolímeros usados como base.

3.4. Matérias-primas utilizadas na formulação de biofilmes comestíveis

Os biopolímeros podem ser obtidos por fontes de compostos orgânicos, sendo que os mais comuns são os polissacarídeos e as proteínas. Os polissacarídeos apresentam destaque por serem de baixo custo e de fonte renovável. Eles possuem características como: emulsificação, controle de cristalização, inibição de sinerese, estabilização de emulsões e também formação de filmes (MAUGERI FILHO, 2001). Classificados quanto à sua origem, subdividindo-se em estruturais (amido, pectina, celulose, entre outros), exudatos (goma arábica) e oriundos de sementes (goma guar e locusta). Originários de plantas aquáticas (ágar, carragena), e de microrganismos (dextrana, gelana, xantana, entre outros), denominados como biopolímeros microbianos (BOBBIO e BOBBIO, 2001).

Biopolímeros obtidos por microrganismos podem ser de polissacarídeos gerados por diversos gêneros de bactérias, fungos e leveduras, que possuem a capacidade de produzir géis e soluções viscosas em meio aquoso, até em baixas concentrações (MOREIRA et al., 2003).

Vários polissacarídeos e derivados têm sido usados em biofilmes e coberturas comestíveis, entre eles estão o alginato, pectina, amidos e derivados de celulose. Devido à origem hidrofílica destes polímeros, pode ser esperada apenas uma mínima barreira à umidade. Porém, alguns polissacarídeos quando usados como camadas gelatinosas com alta umidade têm a capacidade de minimizar a perda de umidade de alguns alimentos (RIGO, 2006).

Entre estes materiais o celofane foi um dos primeiros filmes plásticos biodegradáveis utilizados (obtido a partir do xantato de celulose), sendo esse material flexível, transparente e com boas propriedades mecânicas, no entanto, sensível à umidade. Com a introdução dos polímeros sintéticos na produção de embalagens, em 1950, as vendas de celofane chegaram a cair 90%. Em 1970, as pesquisas voltaram-se para a introdução de amido em matrizes poliméricas sintéticas, na proporção de 5 a 20%, levando à obtenção de plásticos considerados

biofragmentáveis, porém não totalmente biodegradáveis. A aplicação do amido na produção de filmes baseia-se nas propriedades químicas, físicas e funcionais da amilose para formar géis e na sua capacidade para formar filmes (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

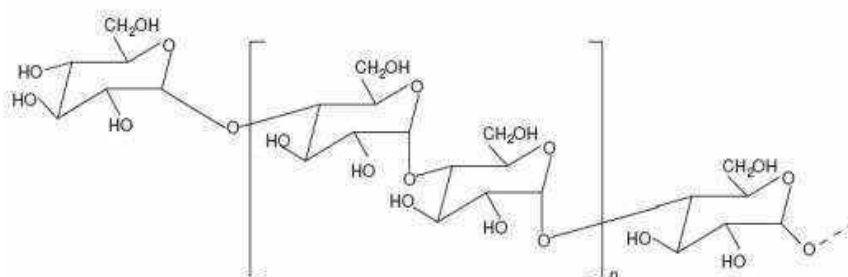
3.4.1. Amido

Amidos, na classe dos polissacarídeos, são os mais fartos carboidratos presentes na natureza, pois são reservas energética e componente estrutural das células das plantas. Pela Legislação Brasileira - Resolução - CNNPA nº 12, de 1978 (ANVISA, 1978), os polissacarídeos de reserva são classificados de fécula ou amido na qual a fécula refere-se à substância amilácea extraída das raízes, tubérculos e rizomas e, o amido é extraído dos grãos de cereais. Quanto às propriedades gerais de ambos, denomina-se simplesmente amido.

O amido é composto por amilose e amilopectina, sendo que estas variam com o grau de maturação e a espécie da planta.

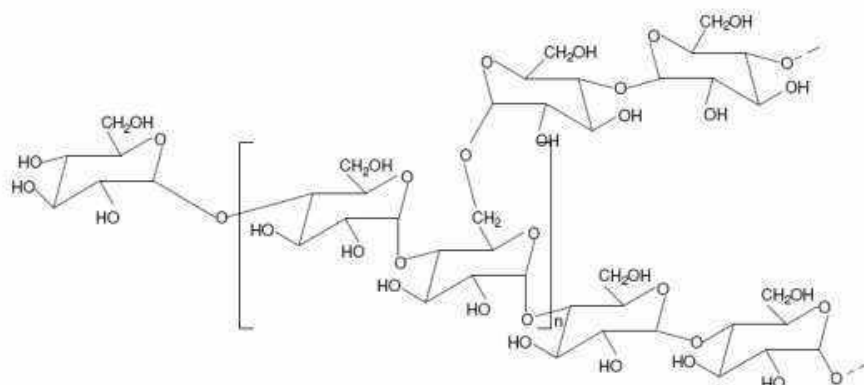
A amilose é uma molécula linear de α -D-glicopiranosas unidas por ligações glicosídicas α -1,4, e demais ramificações. A figura 5 representa a estrutura química da amilose. Sua estrutura helicoidal, α -hélice, é formada por pontes de hidrogênio entre as hidroxilas das moléculas de glicose, e sua massa molar varia entre 10^5 a 10^6 g.mol⁻¹.

Figura 5 - Estrutura química da amilose



Fonte: MENDES, 2009.

A amilopectina apresenta uma estrutura ramificada, estrutura química da amilopectina esta representada pela figura 6, formada por cadeias lineares de α -D-glicopiranosas unidas entre si por ligações α -1,4 e cadeias ramificadas com ligações α -1,6. Possui massa molar em torno de 10^8 g.mol⁻¹ e sua configuração é do tipo dupla hélice (CEREDA, 2001 e MENDES, 2009).

Figura 6 – Estrutura química da amilopectina

Fonte: MENDES, 2009.

O grânulo de amido é composto por amilose e amilopectina, além de outros compostos nitrogenados, lipídeos e minerais, sendo que os polissacarídeos formam 98% da massa do amido. O tamanho e a forma dos grânulos são próprios de cada planta de origem, sendo características muito importantes, porque podem influenciar na aplicação tecnológica e no rendimento industrial (MENDES, 2009). Os grânulos são encontrados nas plantas em suas sementes, raízes ou em seus vasos condutores. Conforme Moorthy (2002) os diâmetros granulares podem variar entre 2 a 100 μ de formatos esférico, ovais, poliédricos, entre outras. Podendo citar como principais fontes de amido comercial: milho, trigo, arroz, batata e mandioca.

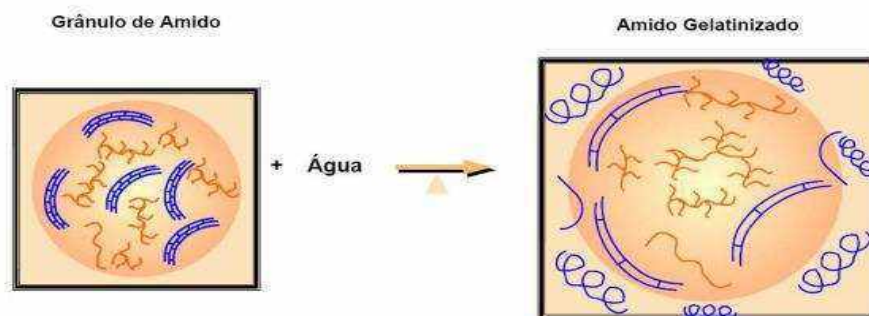
Uma estrutura cristalina possui uma regularidade entre as cadeias, os grânulos de amidos apresentam cerca de 15 a 45 %, referente a amilopectina, caracterizada por difração de raios-X em alguns padrões principais (A, B e C), sob consequência do empacotamento em dupla hélice das cadeias ramificada deste polímero (CEREDA, 2001; MYLLARINEN et al., 2002).

- Padrão A: exposto com arranjo monoclinico, representativo do amido dos cereais.
- Padrão B: estrutura altamente hidratada, formado por dupla hélice empacotada em arranjo hexagonal, representativo do amido dos tubérculos e frutas.
- Padrão C: mistura de A e B, variando quanto à origem, comprimento, abundância de cadeias longas e curtas e com a forma de distribuição dos constituintes das cadeias, representativos do amido de vagens.

Os grãos nativos de amido, quando absorvem água, incham devido a formação de ligações de hidrogênio com grupos hidroxilas do amido e da água. Neste caso, o grão ainda

conserva sua cristalinidade. Quando são inchados e aquecidos, as ligações se rompem e a cristalinidade reduz, processo conhecido como gelatinização do amido, representado pela figura 7 (MENDES, 2009). Os amidos mostram diferentes densidades granulares que afetam a facilidade deste grânulo absorver água. Porém, a escala de gelatinização refere-se à faixa de temperatura acima da qual, todos os grânulos são inchados inteiramente, podendo variar de 60 °C a 75 °C.

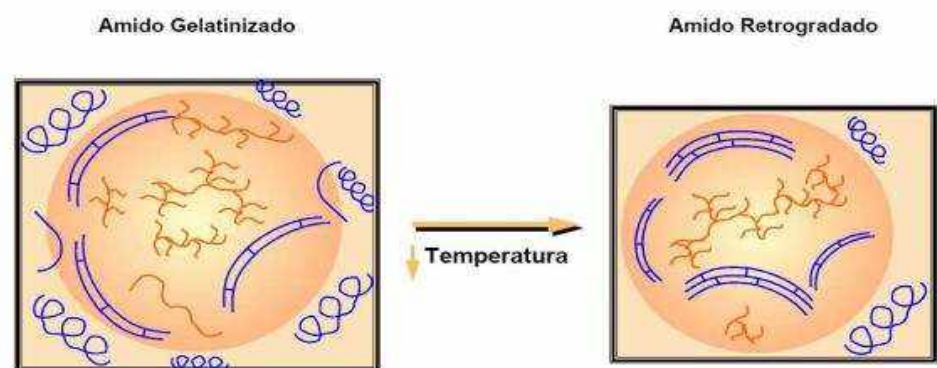
Figura 7 - Gelatinização do amido



Fonte: MENDES, 2009.

As moléculas de amilose após a gelatinização, em função de sua estrutura linear, se orientam paralelamente aproximando-se o suficiente para formar pontes de hidrogênio intermolecular, processo conhecido como retrogradação do amido, como representa a figura 8. Sendo a amilose a principal responsável pela ocorrência da retrogradação, sobretudo a amilopectina que ocorre apenas na periferia da molécula (CEREDA, 2001; MENDES, 2009).

Figura 8 - Retrogradação do amido



Fonte: MENDES, 2009.

A retrogradação é o resultado da redução do volume, aumento da firmeza do gel e diminuição da afinidade do polímero pela água, processo conhecido como sinérese, o qual

resulta da expulsão da água existente entre as moléculas. Tal fenômeno explica a formação de filmes estáveis flexíveis como amido gelatinizado.

Os plastificantes são substâncias pouco voláteis, com alto ponto de fusão, podendo ser utilizados para alterar as propriedades mecânicas dos filmes e coberturas, principalmente à base de amido, tornando-os mais flexíveis e viabilizando seu uso e sua aplicabilidade (VEIGA-SANTOS et al., 2005). Tais alterações nas propriedades mecânicas dos filmes ocorrem devido ao aumento na mobilidade de macromoléculas, em função da redução das forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas, ou seja, o plastificante age como um agente lubrificante, possibilitando o deslizamento entre as macromoléculas (SCHLEMMER, 2007). Tendo então uma melhora da flexibilidade e da extensibilidade do filme, evitando a quebra durante o manuseio e armazenagem (LIN et al., 2000; McHUGH e KROCHTA, 1994). A capacidade destes plastificantes em mudar as características dos filmes como propriedades físicas e de permeabilidade à água, depende tanto da sua estrutura química como da compatibilidade com o polímero (CHAMBI, 2004).

No desenvolvimento de filmes, é indispensável que os plastificantes apresentem características como resistência à luz e ausência de cor, sabor e odor. Monossacarídeos (principalmente a frutose), polióis (glicerol, sorbitol, derivados de glicerina, entre outros), dissacarídeos (sacarose), lipídios e derivados, são exemplos de plastificantes (REIS, 2011).

3.4.2. Pigmento *Monascus*

O pigmento *Monascus* é muito aplicado na indústria de alimentos, principalmente nos países Asiáticos, isolado ou em combinações com demais corantes. Em razão aos altos custos e às dificuldades de produção deste pigmento purificado em cultivo sólido, o cultivo submerso tornou-se uma estratégia alternativa de alguns pesquisadores na Europa e no Brasil, não apenas para adquirirem maiores concentrações deste produto de alto valor agregado (MORITZ, 2005).

Pressupõe-se que o consumo brasileiro de pigmentos naturais seja calculado em 200 toneladas por ano, os quais movimentam cerca de R\$ 80 milhões de reais. Entretanto, o consumo pode ser aumentado, considerando o vasto uso de carmim de cochonilha e sais de nitrito e nitrato na coloração de alimentos cárneos, sobretudo das demais aplicações na indústria farmacêutica (FINK-GREMMELS ET AL., 1991; KILIKIAN ET AL., 2003; MORITZ, 2005).

A utilização de corantes na produção de alimentos é controlada pela Legislação Brasileira, definida pela Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) é a Resolução CNNPA nº. 44 de 1977, Publicada no Diário Oficial da União, Seção I de 01/02/78 e 24/04/78 (ANVISA, 1977). A resolução define corante como:

Substância ou mistura de substâncias que possuem a propriedade de conferir ou intensificar a coloração de alimentos e bebidas. Excluem-se da definição, os sucos e/ou os extratos de vegetais e outros ingredientes utilizados na elaboração de alimentos e bebidas que possuem coloração própria, salvo se adicionados com a finalidade de conferir ou intensificar a coloração própria do produto. (ANVISA, 1977)

Esta mesma resolução classifica os corantes sucintamente:

- **Corante orgânico natural:** é obtido a partir de vegetal, ou eventualmente de animal, cujo princípio do corante tenha sido isolado com a aplicação de processo tecnológico adequado;
- **Corante orgânico sintético:** é obtido por síntese orgânica através de processo tecnológico adequado;
- **Corante artificial:** é o corante orgânico sintético não encontrado em produtos naturais;
- **Corante orgânico sintético idêntico ao natural:** é o corante orgânico sintético da qual a estrutura química é semelhante à do princípio ativo isolado de corante orgânico natural;
- **Corante inorgânico:** é obtido a partir de substâncias minerais e através de processos de elaboração e purificação que se adeque ao uso e emprego em alimento.
- **Caramelo:** é o corante natural que se obtém pelo aquecimento de açúcares à temperatura superior ao ponto de fusão;
- **Caramelo (processo amônia):** é o corante orgânico sintético idêntico ao natural obtido pelo processo amônia, desde que o teor de 4-metil, imidazol não exceda no mesmo a 0,0002 kg kg⁻¹.

Os corantes podem apresentar-se isolados ou sob a forma de mistura de pó, em solução ou associados a solvente e veículos ou sob a forma de sal de alumínio, amônio, potássio ou sódio ou suas placas de alumínio ou cálcio, respeitadas as respectivas especificações (VENDRUSCOLO, 2009).

Os corantes podem ser indicados da seguinte maneira (ANVISA, 1977):

- Pelo nome do próprio princípio ativo, quando este tiver sido isolado de vegetal ou de animal.
- Por indicação que descreva o tipo de tratamento e que tenha sido submetido ou o tipo de veículo a que tenha sido incorporado, seguido do nome do vegetal que lhe tenha dado origem, se extraído de vegetal.
- Por seu nome químico, comum ou científico, se tratando de corante orgânico sintético ou de corante inorgânico.
- Para os códigos de rotulagem serão adotados: corante orgânico natural, corante orgânico sintético artificial, corante orgânico sintético idêntico ao natural e corante inorgânico.

Esta resolução regulamenta os solventes e veículos autorizados na elaboração e processamento dos corantes, como água, açúcares, álcool etílico, amidos, dextrinas, cloreto de sódio, gelatinas, glicerol, óleos e gorduras comestíveis. Essas informações são relevantes, visto que o pigmento laranja é solúvel em álcool etílico e o pigmento vermelho é solúvel em água e álcool etílico (ANVISA, 1977; VENDRUSCOLO, 2009).

Estudos e pesquisas para o desenvolvimento e obtenção de novos pigmentos alimentares por via biotecnológica, têm envolvido milhões em dólares. Com isto, economistas preveem que a maior parte dos corantes sintéticos serão substituídos por corantes naturais (VENDRUSCOLO, 2009).

A produção de corantes por fermentação industrial limita-se à produção de β -caroteno pelas algas. No entanto, existem outras formas de produção de corantes, com grande potencial de mercado. Como exemplo, a riboflavina pode ser produzida por fungos, bactérias e leveduras. Sobretudo, seu uso como suplemento nutricional é mais interessante que o uso como corante alimentar.

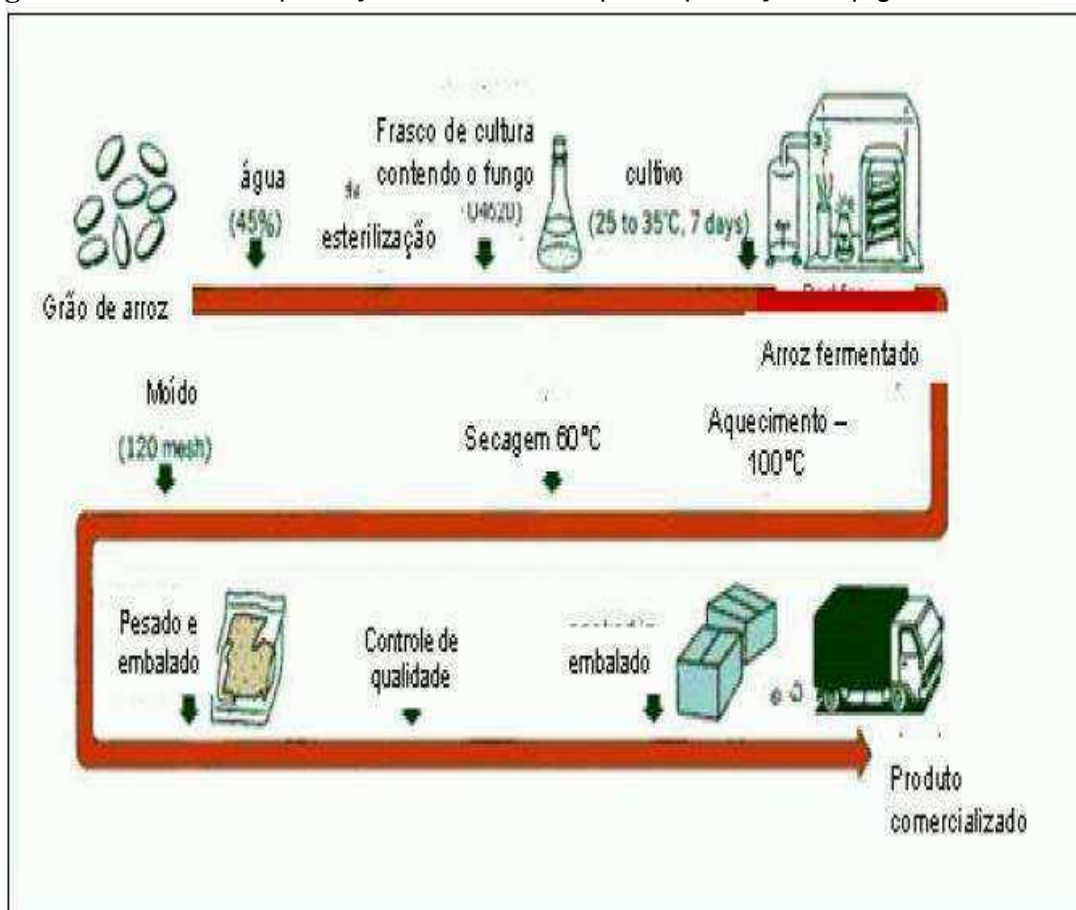
Um método promissor para a obtenção de novos pigmentos alimentares através de métodos biotecnológicos é o cultivo de células vegetais. Estes métodos representam uma grande fonte de produção destes pigmentos. Pesquisas relacionadas à produção de carotenóides, betalainas, antocianinas, naftaquinonas e antraquinonas puras estão sendo muito divulgadas (MORITZ, 2005).

A aparição de componentes para alimentos que podem ser produzidos por via microbiana, embora ampla, ainda encontra várias limitações, como a dificuldade de escolha de linhagens de microrganismos que tenham produção significativa de determinados

compostos, assim como, o controle e estabelecimento de condições ótimas de processo (MORITZ, 2005).

O processo de produção e fermentativo para a produção do pigmento *Monascus* como ocorre nos países do oriente é apresentada na figura 9.

Figura 9 - Processo de produção e fermentativo para a produção do pigmento *Monascus*



Fonte: MORITZ, 2005.

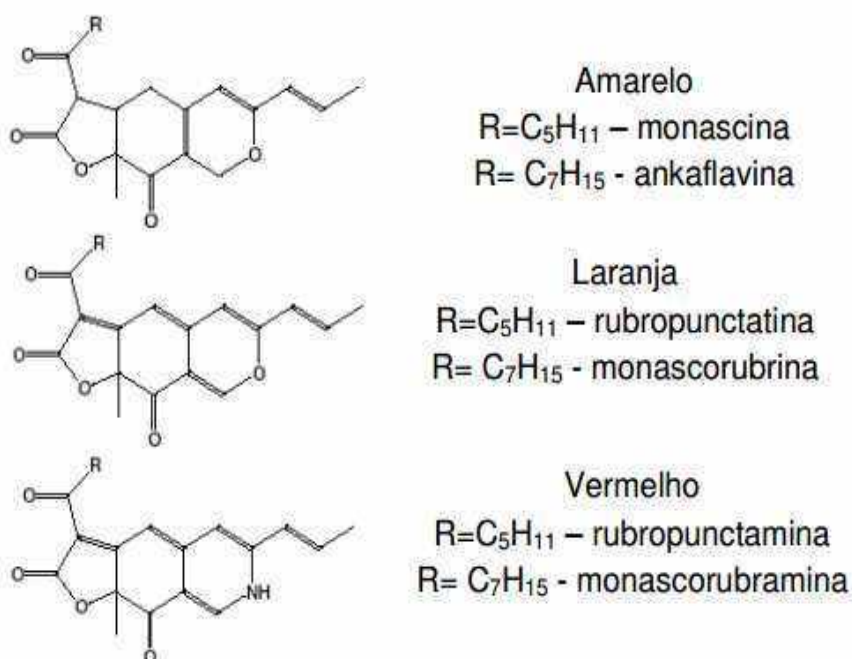
O processo consiste em adicionar cepas do microrganismo *Monascus* spp ao mosto de arroz por 2 a 4 semanas. Após este período o produto é seco e armazenado na forma de grão ou pó. As moléculas são produzidas em pequenas concentrações em relação à quantidade de arroz utilizada (MORITZ, 2005).

Já foram testadas algumas formas de imobilização do *Monascus purpureus*, como Ca-alginato, poliuretano, esponja e carvão ativo (FENICE et al., 2000), obtendo resultados promissores para escala industrial em cultivo submerso. Em alguns estudos, os resultados obtidos foram até mesmo superiores aos processos em fermentação sólida. Fato este que motiva os estudos das formas de produção dos pigmentos vermelhos.

Os principais pigmentos dos componentes produzidos por espécies do gênero *Monascus* incluem os pigmentos laranja (monascorubrina e rubropunctatina), pigmentos vermelhos (monascorubramina e rubropunctamina) e pigmentos amarelos (monascina e ankaflavina) (MORITZ, 2005). Entre estes pigmentos formados, os pigmentos vermelhos possuem maior potencial no comércio, por isto merece mais destaque (FABRE, GOMA e BLANC, 1998). Neste contexto, o pigmento vermelho é produzido pela conversão química a partir do pigmento laranja, a elevados valores de pH, em presença de uma fonte apropriada de nitrogênio.

A figura 10 apresenta a estrutura química dos principais pigmentos obtidos por *Monascus*. A condensação de um mol de acetato com cinco moles de malonato leva à formação, no citosol, do cromóforo hexacetídeo, através do complexo multienzimático policetídeo sintase.

Figura 10 – Estruturas química dos principais pigmentos produzidos por espécies de *Monascus*



Fonte: HAJJAJ et al., 2000b.

A oxidação do pigmento laranja monascorubramina dá origem ao pigmento amarelo (ankaflavina - $C_{23}H_{30}O_5$ ou monascina - $C_{21}H_{26}O_5$ para a rubropunctatina). Os ácidos graxos de cadeia média como, por exemplo, o ácido octanóico, são sintetizados pela via metabólica dos ácidos graxos e ligam-se à estrutura do cromóforo através de uma reação de trans esterificação gerando o pigmento laranja (monascorubrina - $C_{23}H_{26}O_5$ ou rubropunctatina -

$C_{21}H_{22}O_5$ em trans-esterificação com o ácido octanóico). Os pigmentos vermelhos (monascorubramina - $C_{23}H_{27}NO_4$ e rubropunctamina - $C_{21}H_{23}NO_4$) são produzidos pela reação do pigmento laranja com compostos que contenham NH_3 e NH_2 na molécula. Esses pigmentos são instáveis a pH extremos, luminosidade e temperatura e permanecem intracelularmente devido a alta hidrofobicidade, sendo eventualmente excretados para o meio de cultivo após a reação (HAJJAJ et al., 2000b).

Pigmentos produzidos pelo *Monascus* são de baixa solubilidade na água, sensíveis ao calor, instáveis aos valores extremos de pH (2,0 e 10,0) e exposição à luz. São muito reativos com agrupamentos amino contido em proteínas, aminoácidos e ácidos nucleicos, formando complexos hidrossolúveis mantendo sua coloração estável por diversos meses se conservados em solventes orgânicos (butanol), mas quando colocados em solução aquosa ele é degradado em poucos dias. Sua estabilidade é favorecida por um complexo doador-aceptor de elétrons (EDA), (HAJJAJ, KLAEBE, LORET et al., 1997).

Ensaio com o objetivo de avaliar o efeito da temperatura, luz (incluindo ultravioleta - UV) e associação com alguns aditivos alimentares foram estudados comparando os pigmentos produzidos pelo *Monascus purpureus* com os pigmentos comerciais Chineses e Japoneses, após exposição a várias condições físico-químicas. Os dados obtidos serviram para demonstrar as possíveis aplicações, bem sucedidas, do pigmento *Monascus* como, por exemplo, na linguiça chinesa, no macarrão instantâneo e em produtos lácteos. Contudo, os resultados de estudos da aplicabilidade deste corante em doces e balas, que requerem altas temperaturas, durante o processamento foram insatisfatórios, impossibilitando seu uso na produção destes produtos, devido a sua baixa resistência a altas temperaturas ($> 150\text{ }^{\circ}\text{C}$) (FABRE, GOMA e BLANC, 1998; MORITZ, 2005).

De acordo com estudos realizados por FABRE et al. (1998), o pigmento vermelho obtido a partir do cultivo do *Monascus*, pode ser utilizado como substituto de aditivos sintéticos tradicionais como sais nitrito (E249). No entanto, a utilização do pigmento *Monascus* como corante alimentar dependerá das interações com os componentes dos produtos alimentícios.

3.5. Estudo da qualidade de morangos

3.5.1. Aparência

A aparência de um fruto é o primeiro aspecto de qualidade avaliado pelos consumidores no ato da aquisição do produto. No caso do morango não é diferente, pois

características como cor, tamanho, forma, turgescência e ausência de defeitos externos são avaliados pelo consumidor, para decidir qual melhor fruto levar.

Os cultivares diferem um do outro pela forma e tamanho. O morango é visto como um fruto importante na dieta alimentar, devido a parâmetros como sabor, cor, aroma e também como valor nutricional, por isto é muito utilizado em sobremesas. A vida útil de um morango, no geral 'in natura', é muito curta mesmo sob refrigeração, porque são muito propensos a fungos e podridões. É um fruto que requer muitos cuidados por ser delicado e altamente perecível, sendo que isto implica no alto custo do produto (SILVA, 2010).

Com o amadurecimento, os frutos perdem água na forma de vapor, provocando murchamento e enrugamento, afetando a aparência do fruto e, conseqüentemente o aroma e sabor. A perda de água tem conseqüências como o enfraquecimento das células, isto torna o fruto mais propenso ao ataque de microrganismos e também o levam-no a algumas reações físicas e químicas (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

3.5.2. Acidez titulável (AT) e pH

Os ácidos orgânicos presentes nos tecidos vegetais podem se encontrar na forma livre ou esterificada (metila, propila, hexila, entre outros). Os ácidos fracos livres, na presença de seus sais de potássio, apresentam pequena variação no pH em função do equilíbrio estabelecido no sistema. Os ácidos encontram-se associados com sais de potássio e constituem sistemas tampões, que têm importante papel na regulação da atividade enzimática nas células (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Durante o processo de maturação, os teores de ácidos orgânicos geralmente diminuem, devido à oxidação nos ciclos dos ácidos tricarbóxicos em decorrência da respiração. A acidez se dá em função do estágio de maturação do fruto (OLIVEIRA et al., 2005).

3.5.3. Sólidos solúveis e açúcares

Sólidos solúveis (SS) correspondem a todas as substâncias que se encontram dissolvidas em um determinado solvente, no caso dos alimentos um solvente é a água. São formados basicamente por açúcares, fazendo parte outros compostos, porém em pequenas quantidades como os ácidos orgânicos, vitaminas, aminoácidos e algumas pectinas, fenólicos,

variando de acordo com a espécie, o cultivar, o estágio de maturação e o clima, com valores entre 8% a 14% (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Os açúcares acumulados formam as principais substâncias químicas dos frutos, no processo tecnológico (produção de bebidas fermentadas, sucos, geleias, doces, entre outros). Quanto maior o teor de açúcares SS nos frutos, melhor é para a indústria que os manipulam. As indústrias que processam frutas e outros vegetais açucarados (como a cana-de-acúcar, beterraba) devem conhecer o teor de SS para o controle industrial adequado. Os SS são responsáveis pela doçura durante a maturação e determinam o sabor final do fruto (KAWAMATA, 1997).

Os açúcares solúveis presentes nos frutos, na forma livre ou combinada, são responsáveis pela doçura por meio do balanço com ácidos, pela cor chamativa, como derivados das antocianidinas e pela textura, quando combinados adequadamente com polissacarídeos estruturais. Os principais açúcares solúveis presente nos frutos são glicose, frutose e sacarose (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

3.5.4 Vitamina C

O ácido ascórbico conhecida também por vitamina C (forma reduzida), é uma das treze principais vitaminas, que fazem parte de um grupo de substâncias químicas complexas, que auxiliam no bom funcionamento do nosso organismo. É uma vitamina hidrossolúvel, isto significa que o organismo utiliza o necessário e elimina o excesso. Ao oxidar, o ácido ascórbico transforma-se em ácido de-hidroascórbico, também ativo, a oxidação acontece devido à ação da enzima ácido ascórbico oxidase (OLIVEIRA et al., 2006).

O morango possui uma fonte rica em vitamina C, variando entre 39 a 0,0089 kg/1 kg de fruta, assim este valor médio é de 0,0060 kg/1 kg de fruta. Os teores de ácido ascórbico podem variar, de acordo com o estágio de maturação, do cultivar, da época, condições do cultivo, da duração e também das condições de armazenamento (DOMINGUES, 2000).

3.5.5 Antocianinas

Antocianinas são metabólitos que pertencem à classe dos flavonoides. Elas são encontradas na natureza em grande quantidade e são responsáveis pelas cores azuis, violeta e vermelho das flores e dos frutos, além de serem utilizadas na indústria como corante natural.

O principal emprego biológico deles é a atividade antioxidante, na qual se deve sua estrutura química formada por três anéis, que possuem ligações duplas conjugadas e hidroxilas distribuídas ao longo da estrutura que possibilitam o sequestro de radicais livres, causadores de danos celulares e doenças degenerativas (SILVA, 2010).

Estudos feitos por Moraes et. al. (2008), com morangos minimamente processados e conservados sob refrigeração com atmosfera controlada, mostram que as características físicas e químicas variaram e que os teores de antocianinas aumentaram durante o período de armazenamento, essa variação foi de 21,83 a 24,68 mg.g⁻¹.

3.6. Microrganismos da microbiota natural do morango

O controle biológico tem como objetivo assegurar a ausência de microrganismos patogênicos e também o nível de contaminação com protozoários e vírus ou até mesmo seus metabólitos, que podem afetar a qualidade e a segurança do produto. No entanto, não pode-se dizer que existe um alimento 100% seguro, e sim aqueles livres de perigo de natureza biológica, química e física, ou seja, que não cause dano e nem seja veículo de um agente causador de doença, capaz de colocar em risco a saúde do consumidor. A contaminação alimentar se dá principalmente pela entrada de corpos estranhos no alimento. Nos vegetais e frutos, a contaminação ocorre durante o crescimento, a colheita, a distribuição e a preparação final. Com isto são adotadas medidas preventivas para minimizar a contaminação dos produtos em toda a cadeia produtiva, como implantação de boas práticas agrícolas (BPA), entre outras (ALCÂNTARA, 2009).

O consumidor não tem como verificar se há contaminantes microbiológicos nos alimentos, isto é feito através de análises em laboratório. Os tipos de microrganismos contaminantes mais comuns são (ALCÂNTARA, 2009):

- Coliformes: totais ou termotolerantes, o grupo de microrganismos (*E. coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*) indica más condições de higiene, com provável contaminação, falha nos processos de limpeza e reprodução durante o processamento ou estocagem (SILVA et. al. 200). São encontrados no trato intestinal do homem e animais como habitat mais comum. Sua detecção sinaliza a presença de possível patógeno entérico. Os coliformes termotolerantes, ou coliformes a 45 °C, são diferentes dos coliformes totais, pois fermentam a lactose produzindo gás, quando são incubados a uma temperatura de 44,5 °C (ALCÂNTARA, 2009).

- *Salmonella* sp: são da família Enterobacteriaceae, sendo o agente mais significativo de doenças transmitidas por alimentos (ALCÂNTARA, 2009). A temperatura ótima de crescimento dessa bactéria é em média dos 37,5 °C, sendo a mínima já registrada entre 5,3 °C a 6,8 °C e máxima a 45 °C, isto varia de acordo com o sorotipo das bactérias (GERMANO & GERMANO, 2001). Todos os sorotipos desta espécie são patógenos intracelulares facultativos (BHUNIA, 2008). Com base no Codex Alimentarius, se há presença de qualquer sorotipo de *Salmonella* no alimento, isto é motivo para classificá-lo como impróprio para o consumo. A contaminação ocorre por alimentos produzidos organicamente, através de água contaminada, esterco animal e até mesmo por sedimentos dos dejetos (ALCÂNTARA, 2009).
- Microrganismos aeróbios psicotróficos: são definidos por se desenvolverem sob temperatura 0 °C a 7 °C, isto em colônias visíveis dentro de 7 a 10 dias em sua temperatura ótima de crescimento, que varia de 20 °C a 30 °C (ALCÂNTARA, 2009). A contaminação por psicotróficos se associa com a presença de bactérias: *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Aeromonas hydrophila*. Causam a deterioração dos alimentos armazenados sob refrigeração por microrganismos deteriorantes e não patógenos, reduzindo a vida de prateleira do alimento (LEITE, 2007). Os fungos filamentosos e leveduras: geralmente são indicadores de condições de higiene durante a produção e processamento e/ou problemas de contaminação ambiental no interior da planta de processamento. Eles estão presentes no solo, ar e água, compondo a microbiota epífita do local de plantio. São associados à deterioração de vegetais in natura (SCHLIMME, 1995). Aos quais são responsáveis pelo amolecimento do tecido vegetal, devido à atividade pectinolítica e celulolítica. As leveduras quando presentes em frutas e hortaliças provocam o aumento do pH de produtos ácidos levando ao desenvolvimento de bactérias patogênicas. São facilmente desenvolvidas em produtos orgânicos por serem cultivados em ambientes úmidos e com presença de matéria em decomposição, podendo causar a contaminação do alimento (ALCÂNTARA, 2009).

4. METODOLOGIA

Os morangos foram obtidos no CEASA da cidade de Patos de Minas, quantidade suficiente para fazer os testes em triplicatas durante os 19 dias de armazenamento. O amido de mandioca usado foi da marca Yoki (Yoki alimentos S.A.). Entretanto, para a produção de filmes foi utilizado o Glicerol P. A. da marca Synth. Para o acetato de amido foram utilizados Anidrido Acético P. A. da marca Vetec, Ácido Acético P. A. da marca Dinâmica e Ácido Sulfúrico P. A. da marca Synth. Além desses, foram utilizados Sorbato de Potássio, como conservante artificial, de uso comercial da marca Doce Aroma e o pigmento Monascus, utilizado como conservante natural, este foi produzido no laboratório de Engenharia Bioquímica (ENGEBIO) da Universidade Federal de Santa Catarina e gentilmente cedido para este trabalho e outros se necessário.

4.1. Seleção dos morangos

Os morangos foram selecionados, retirando os que apresentavam qualquer tipo de lesão. Logo em seguida foram lavados com água abundantemente e deixados para secar em temperatura ambiente até o preparo dos filmes. Foi realizada uma nova seleção em 5 amostras como na Figura 11, tomando o cuidado para tentar manter as mesmas características para cada uma, quanto ao tamanho, formato e grau de maturação do morango.

Figura11: Foto dos Morangos selecionados em 5 amostras



Fonte: Própria.

4.2. Preparo do acetato de amido

Em um béquer de 1000 ml colocou-se 0,75 kg de amido seco, 135 ml de ácido acético glacial e 138 ml de anidrido acético. A solução foi aquecida a 40 °C com agitação para assegurar uma mistura completa. Após atingir a temperatura de 40 °C retirou-se a mistura do aquecimento e foi adicionada cuidadosamente e gradualmente em banho de gelo com agitação durante os 10 primeiros minutos da reação, a mistura catalisadora (1,05 ml de ácido sulfúrico concentrado e 12,45 ml de ácido acético glacial). Em seguida, a solução foi aquecida até atingir a temperatura de reação desejada, mantendo-se a agitação durante 2 horas.

Depois desse tempo de reação foram adicionadas aproximadamente 250 ml de água destilada e gelada, para a precipitação do acetato de amido. Após a decantação do precipitado foi realizada a filtração em um filtro de Bücher e o sobrenadante descartado. A secagem do precipitado foi realizada em estufa a 60 °C por 8 horas.

4.3. Preparação dos filmes

4.3.1 Amido

Para uma solução de 3% de acetato de amido, em um béquer com 0,500 kg de água foram pesados 0,1722 kg de amido kg^{-1} de solução e 0,517 kg de glicerol kg^{-1} de amido em uma balança semi-analítica (marca Shimadzu) e 0,4776 kg de água destilada. Em seguida, a suspensão foi aquecida em banho ultratermostatizado (marca Solab), sob agitação mecânica. Assim que a solução atingiu 75 °C, foi mantida por 5 minutos, para gelatinização do amido. Após esse processo, a solução foi resfriada à temperatura ambiente.

4.3.2. Acetato de Amido

Para uma solução de 3% de acetato de amido, em um béquer com 0,500 kg de água foram pesados 0,1704 kg de acetato de amido kg^{-1} de solução, 0,511 kg de glicerol kg^{-1} de amido e 0,4756 kg de água destilada. Em seguida, a suspensão foi aquecida em banho ultratermostatizado (marca Solab), sob agitação mecânica. Logo que a solução atingiu 75 °C, foi mantido por 30 minutos, para a gelatinização do amido. Após esse processo, a solução foi resfriada à temperatura ambiente.

4.3.3. Sorbato de Potássio

Para uma solução de 0,15 kg de acetato de amido/0,500 kg de solução foram adicionados 0,5% sorbato de potássio. Sendo assim, em um béquer com 0,500 kg de água foram pesados 0,1704 kg de acetato de amido kg^{-1} de solução, 0,511 kg de glicerol kg^{-1} de amido, 0,00085 kg de sorbato kg^{-1} amido (de acordo com Resolução nº 45, de 3 de novembro de 2010 – ANVISA, que regulamenta a quantidade máxima de aditivos) e 0,4778 kg de água destilada. Em seguida, a suspensão foi aquecida em banho ultratermostatizado (marca Solab), sob agitação mecânica. Assim que a solução atingiu 75 °C, foi mantido por 30 minutos, para a gelatinização do amido. Após o processo, a solução foi resfriada à temperatura ambiente.

4.3.4. Monascus

Para uma solução de 3% de amido, em um béquer com 0,500 kg de água foram pesados 0,1704 kg de amido kg^{-1} de solução, 0,517 g de glicerol kg^{-1} de amido, 3 ml de Monascus e 0,4756 kg de água destilada. Em seguida, a suspensão foi aquecida em banho ultratermostatizado (marca Solab), sob agitação mecânica. Depois que a solução atingiu 75 °C, foi mantida por 5 minutos, para a gelatinização do amido. Após esse processo, a solução foi resfriada à temperatura ambiente.

4.4. Aplicação dos filmes comestíveis e acondicionamento dos morangos

Para realizar a aplicação dos filmes nos morangos, quatro filmes diferentes foram aplicados. Uma amostra ficou sem cobertura (controle) e foram comparadas entre si. Assim, prepararam as soluções de amido de mandioca, acetato de amido, acetato de amido com sorbato de potássio e amido com Monascus.

Com suspensões à temperatura ambiente, os morangos foram imersos na solução filmogênica, onde permaneceram por 1 minuto sob agitação leve, depois retirado e colocado em uma grade metálica. A figura 12 é uma foto dos morangos dispostos na grade metálica. Para secagem da película na superfície do morango, o suporte foi transferido para uma estufa com circulação de ar à temperatura ambiente (25-30 °C), por 6 horas.

Figura 12 - Foto dos morangos dispostos na grade metálica



Fonte: Própria.

A figura 13 mostra a foto dos morangos recobertos secos, prontos para armazenamento.

Figura 13 – Foto dos morangos recobertos secos, prontos para o armazenamento



Fonte: Própria.

Em seguida, os morangos foram transferidos para a geladeira com temperatura ajustada em aproximadamente 7 °C, figura 14 mostra o foto dos morangos recoberto com coberturas comestíveis e sem cobertura armazenados na geladeira.

Figura 14 - Foto dos morangos recobertos com coberturas comestíveis e sem cobertura armazenados na geladeira



Fonte: Própria.

4.5. Análises físico-químicas durante a estocagem

Para realizar a aplicação dos filmes nos morangos, dois filmes diferentes foram aplicados no morango e comparados entre si; as soluções de amido de mandioca nativo e acetato de amido. Estas soluções foram aplicadas nos morangos por submersão da fruta na solução filmogênica. Nesse recobrimento os morangos foram imersos na solução filmogênica, onde permaneceram por 1 minuto, sendo retirados e secos.

Após aplicação dos filmes nas superfícies dos morangos, foram feitas análises físico-químicas e mecânicas para controle de qualidade para acompanhamento do processo de deterioração e comportamento do fruto ao longo dos dias estocados. Dessa forma, as análises foram realizadas ao 0, 3°, 7°, 10°, 15° e 19° dia. A descrição da metodologia das análises realizadas, que são perda de massa, pH, acidez titulável, sólidos solúveis, índice de maturação, atividade de água, teor de umidade, análises de cor, textura e sensorial.

4.5.1. Determinação de pH

O pH foi avaliado através do suco extraído da homogeneização de 3 frutos. A metodologia utilizada foi a descrita pela AOAC (2000). A leitura foi realizada em pHmetro digital (Marconi).

4.5.2. Acidez total titulável

A determinação da acidez foi baseado no método descrito por Carvalho et al. (1990), para determinar a acidez total titulável foram pesados 5g de morangos triturados e em seguida dissolvidos em 100 ml de água destilada. A mistura foi agitada vigorosamente a fim de homogeneizar a amostra. Uma alíquota de 5 ml da amostra foi transferida para um erlenmeyer, diluída em 30 ml de água destilada e acrescentada 3 gotas de fenolftaleína 0,1 M. A titulação foi com solução de Hidróxido de Sódio 0,1 N até que a primeira coloração rósea clara perdurasse por 30 segundos. A acidez foi calculada pela equação 2 e os resultados expressos em porcentagem de ácido cítrico.

$$\% \text{ de ácido cítrico} = \frac{V \cdot f \cdot N \cdot PE}{P} \quad (2)$$

Nessa equação, V é o volume de NaOH gasto na titulação em mL, f é o fator de correção, N é a normalidade do NaOH, P é a massa de amostra em g e PE o peso equivalente em grama do ácido cítrico.

4.5.3. Sólidos solúveis (°Brix)

A análise dos sólidos solúveis foram realizados num refratômetro portátil, com modelo EEQ9029 (marca Edutec). Com o auxílio da pipeta colocou-se algumas gotas de morangos macerados sobre o prisma inferior. Aguardaram-se alguns segundos para que o líquido entrasse em equilíbrio térmico com o prisma. Procurou-se lentamente na ocular a linha de separação entre a região iluminada e a escura, usando para isto o botão de variação de ângulo. Com a linha de separação bem nítida procedeu-se à leitura do °Brix.

4.5.4. Índice de maturação

A análise do índice de maturação (IM) foram medidos através da razão entre o teor de sólidos solúveis (°Brix) pela acidez total titulável (ATT), como expresso pela equação 3.

$$IM = \frac{^{\circ}Brix}{AT} \quad (3)$$

4.5.5. Atividade de água

Foram realizadas as análises de atividade de água, amostras em triplicatas, utilizando o aparelho Aqualab Lite (marca DECAGON). Utilizou-se o princípio de constante dielétrica para medida de atividade de água e sensor infravermelho para medida da temperatura da superfície da amostra.

Primeiramente, o aparelho foi calibrado com solução padrão e a faixa de atividade de água próxima do alimento em que seria feita a leitura. Após a calibração, os morangos macerados foram colocados em potes cápsulas do equipamento. Em seguida, foram levados ao equipamento para as leituras.

4.5.6. Umidade

A umidade do morango foi determinada pelo método gravimétrico 925.10 sugerido pela AOAC (2000), através do qual a água evaporada em estufa se apresentava com circulação de ar a 105 °C. A umidade foi calculada pela equação 4, com resultados expressos em porcentagem:

$$\% \text{umidade} = \frac{(\text{masa úmida} - \text{masa seca})}{\text{masa úmida}} \times 10 \quad (4)$$

4.5.7. Análise de textura

A firmeza foi medida como a força de penetração (N) exercida para ruptura do tecido utilizando uma probe cilíndrica de 3 mm de diâmetro. A profundidade de penetração utilizada foi de 50% e a velocidade de teste foi 1 mm/s, utilizando um texturômetro (TA-XTplus – Stable Micro Systems, Godalming, Inglaterra). O teste foi realizado com 9 morangos de cada amostra.

4.5.8. Análise Sensorial

Utilizou-se a metodologia proposta por Garcia (2009) com algumas modificações. A análise foi realizada com morangos de 3 e 10 dias de armazenamento. Assim, amostras dos três diferentes tratamentos (controle, amido e acetato de amido) foram submetidas à análise juntamente com uma amostra de morangos frescos como parâmetro de controle. Para o teste

foi utilizado escala hedônica linear não estruturada de 9 cm, ancorada nos extremos com “desgostei muitíssimo” e “gostei muitíssimo”, sendo as seis amostras distribuídas de forma randomizada para os provadores. Os morangos foram avaliados em relação à aparência, aroma, sabor, textura e impressão global por 30 provadores não treinados e consumidores da fruta. A intenção de compra do produto também foi avaliada.

4.6. Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas foram feitas com porções de 0,25 kg de morango de cada amostra e batidos por 1 minuto no liquidificador com 225 ml de água esterilizada. Diluições decimais apropriadas foram preparadas e alíquotas dessas diluições foram transferidas para meios específicos para a determinação de cada grupo de microrganismos. Cada diluição foi plaqueada em triplicata.

4.6.1. Quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos

Análises microbiológicas foram realizadas para avaliar a qualidade dos morangos. A contagem padrão de aeróbios mesófilos foi realizada pela técnica de espalhamento em superfície, inoculando-se uma alíquota de 1 ml das diluições em ágar para contagem padrão (PCA) com incubação na estufa a $36 \pm 0,5$ °C por 48 ± 3 horas. A contagem de psicotróficos foi feita usando a técnica de espalhamento em superfície, inoculando 1 ml das diluições em ágar PCA e incubando na geladeira a 7 °C por 7 a 8 dias. Após este período de incubação, foram realizadas as contagens e os resultados foram expressos em logaritmo decimal de unidade formadora de colônia por grama ($\log \text{UFC/g}^{-1}$).

4.6.2. Quantificação de fungos filamentados e leveduras

A contagem padrão de fungos e leveduras foi feita por espalhamento em superfície inoculando 1 ml das diluições em ágar Batata Dextrose (BDA) com incubação a 25 °C por 5 dias. Após este período foram realizadas as contagens e os resultados foram expressos em logaritmo decimal de unidade formadora de colônia por grama ($\log \text{UFC/g}^{-1}$).

4.6.3. Quantificação de enterobactérias

A presença da enterobactérias foi confirmada com a inoculação de alíquotas em placas de petri contendo ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) feita por espalhamento em superfície, inoculando 1 ml das diluições com incubação na estufa a $36 \pm 0,5$ °C por 48 ± 3 horas. Após esse período foram realizadas as contagens e os resultados foram expressos em logaritmo decimal de unidade formadora de colônia por grama ($\log \text{UFC/g}^{-1}$).

4.6.4. Quantificação de coliformes totais e termotolerantes

Os coliformes totais e termotolerantes foram quantificados utilizando-se a técnica de números mais prováveis (NMP). O teste presuntivo foi realizado com a inoculação de alíquotas de 1 ml das diluições adequadas da amostra em três tubos, contendo tubos de Durham e caldo Bile Verde Brilhante (BVB), para confirmar coliformes totais 37 °C, e caldo Escherichia coli (EC), para confirmar coliformes a 45 °C. Estes tubos foram incubados em banho-maria, nas temperaturas já mencionadas por 48 horas e foram considerados positivos aqueles que tiveram a formação de gás.

4.6.5. Presença ou ausência de Salmonella sp

A análise de identificação de Salmonella sp foi realizada pelo laboratório Celasa Análises Biotecnológicas ME, localizados na cidade de Patos de Minas. Este laboratório possui um sistema de Gestão da Qualidade de acordo NBR ISO 17025. A técnica para identificar Salmonella spp encontra-se disposta na norma - NF EN ISO 6579:2002 – Determinação qualitativa pela técnica de Presença/Ausência de Salmonella sp (INMETRO,2013). Portanto o laboratório CELASA utilizou o método disposto na norma IN 62/2003, de acordo com o que se segue no anexo.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização físico-química

Os resultados das análises de pH, sólidos solúveis (°Brix), índice de maturação, atividade de água, firmeza, umidade e acidez do morango são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização físico-química dos morangos

Análises	Controle				
	(sem cobertura)	Amido	Acetato	Sorbato	Monascus
pH	3,32 ^a	3,55 ^a	3,47 ^a	3,49 ^a	3,46 ^a
Aw	0,999 ^a	0,991 ^a	0,997 ^a	0,999 ^a	1,003 ^a
°Brix	5,8 ^a	7,1 ^d	6,8 ^c	6,3 ^b	6,9 ^c
Acidez	0,410 ^a	0,400 ^a	0,415 ^a	0,441 ^a	0,471 ^a
IM (°brix/ acidez)	14,146 ^a	17,750 ^b	16,385 ^b	14,285 ^a	14,649 ^b
Umidade (%)	92,73 ^a	91,31 ^a	91,28 ^a	92,39 ^a	91,35 ^a
Firmeza (N)	15,2±0,33 ^a	18,3±0,39 ^a	25,0±0,64 ^b	20,5±0,32 ^a	18,5±0,35 ^a

* A acidez é expressa por g de ácido cítrico/100g de morango. Letras minúsculas na mesma linha não há diferença significativa entre as médias com nível de significância de 5%. IM = Índice de Maturação.

Os resultados de pH foram entre 3,32 e 3,55. De acordo com os valores observados, nota-se que não houve diferença significativa entre os morangos com cobertura e sem cobertura.

Costa (2009) estudou morangos cobertos com filmes com quitosana e cloreto de cálcio, adicionados ácido esteárico e oléico. Os resultados encontrados por este autor foram entre 3,62±0,01 a 3,82±0,02, sendo semelhantes aos encontrados neste trabalho.

Vargas et al. (2006), não observam variação significativa do pH em morangos cobertos com quitosana e ácido oléico durante o armazenamento. Também Costa (2009) não observou variação significativa do pH de morangos minimamente processados cobertos com solução de quitosana durante 14 dias de armazenamento.

Segundo Ponce et al. (2008), que estudaram a vida de prateleira de morangos minimamente processados, o pH dos morangos armazenados em embalagens recobertas com uma e quatro camadas de filme PVC aumentou somente após o sexto dia de armazenamento, enquanto aqueles embalados com duas e três camadas de filme PVC apresentaram aumento de pH nos primeiros seis dias de armazenamento.

Tanto o pH quanto a acidez titulável estão relacionadas a determinação de ácidos presentes no alimento. Eles se diferem, pois, o pH mede o ácido dissociado que tem poder tamponante, já a acidez titulável é a medida da quantidade total de ácidos presentes (ácidos orgânicos livres, na forma de sais e compostos fenólicos) (Garcia, 2009). Pode-se perceber que não houve diferença significativa da acidez titulável entre as amostras. Os valores variaram de 0,0400 kg a 0,0417 kg de ácido cítrico/100 kg de amostra. Tavares (2015) que trabalhou com morangos recobertos com 0,5% e 1% de filmes de quitosana, encontrou acidez titulável de $0,085 \pm 0,001$ kg e $0,081 \pm 0,002$ kg de ácido cítrico/100 kg de amostra, respectivamente.

Os valores de acidez titulável encontrados nesse estudo estão de acordo com a literatura, porém, a quantificação desses teores pode ser influenciada por alguns fatores como: condições e tempo de armazenamento, tratamento aplicado e estágio de maturação inicial dos frutos, que influenciam nos teores de alguns componentes dos frutos. Costa (2009), que estudou a vida útil dos morangos com o emprego de coberturas comestível, percebeu que as coberturas de quitosana e quitosana com cloreto de cálcio adicionando de ácido oléico, apresentaram acidez titulável estatisticamente menor que a dos frutos não cobertos, não havendo diferença entre as coberturas empregadas. Hernandez-Muñoz et al. (2006) também não observaram diferença significativa na acidez titulável de morangos com cobertura de quitosana contendo cálcio.

Os resultados dos índices de maturação obtidos neste trabalho variaram de 14,146 a 17,170. Os morangos recobertos com amido (AM) tiveram o maior valor de índice de maturação e isto reflete diretamente na aceitabilidade do consumidor. Morangos com baixas quantidades de açúcares não são aceitos sensorialmente pelos consumidores. Portanto, quanto menor o índice de maturação maior é a rejeição por parte do consumidor. Além disso, morangos com grande quantidade de água e baixa concentração de açúcares e ácidos são insípidos, logo são rejeitados.

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005) durante o amadurecimento dos frutos, espera-se que os valores de SS aumentem devido à hidrólise de polissacarídeos em açúcares simples e que os valores de acidez titulável diminuam, devido ao consumo de ácido, água e

energia para a manutenção do fruto. Porém, Olivas e Barbosa-Cánovas (2009) afirmam que a água dos frutos deve ser sempre considerado na avaliação dos valores de SS e acidez titulável. A perda de água causa um aparente aumento nesses valores, podendo levar a uma interpretação incorreta dos parâmetros. Brackmann (1999), afirma que níveis mais elevados de acidez titulável podem ser resultantes da redução da taxa respiratória, pois os ácidos são as substâncias mais prontamente disponíveis para a obtenção de energia, no ciclo de Krebs.

A quantidade de água de um alimento influencia na textura, na aparência, no sabor e na deterioração microbiológica do mesmo (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Os valores de atividade de água (A_w) variaram pouco, ficando em média de 0,998, contudo valores altos de atividade de água são comuns para frutos frescos.

A umidade variou de 91,28 a 92,78%. Estes altos valores de umidade são condizentes com os altos valores de A_w . Resultados semelhantes foram encontrados por Chiumarelli (2011) em maçãs recobertas com filmes de fécula de mandioca e cera de carnaúba.

Os sólidos solúveis (SS) presentes na polpa dos frutos incluem importantes compostos, açúcares e ácidos orgânicos, responsáveis pelo sabor e, conseqüentemente, pela aceitação dos consumidores (EMBRAPA, 2005b). Em frutas não-climatéricas, como o morango, espera-se que haja redução do teor de sólidos solúveis, pois são frutas que apresentam baixa reserva de energia (amido). Assim, utilizam os açúcares presentes na fruta para a respiração, diminuindo os valores do °Brix. Entretanto, a perda de água nas frutas durante o armazenamento deve ser considerada para a interpretação dos valores de °Brix, assim como da acidez titulável, uma vez que a desidratação causa um aumento na concentração de ambos os parâmetros, interferindo no aumento dos valores ao longo do armazenamento. O teor de sólidos solúveis dos morangos não foi influenciado pela cobertura, não sendo verificado o tratamento aplicado nos frutos durante todo o período de armazenamento (Tabela 1). Os valores encontrados foram de 6,3 a 7,1 para os morangos com coberturas e de 5,8 para o controle. Este resultado está de acordo com Ribeiro et al. (2007), que não observaram diferença significativa no teor de sólidos solúveis de morangos cobertos com quitosana e cálcio durante o armazenamento refrigerado.

Prates (2010) ao estudar morangos com coberturas de amido de fruta-de-lobo e sorbitol, encontrou menores teores de SS (4,91 °Brix) no dia da colheita e maiores (5,30 °Brix) ao final do período de armazenamento. Já Barbosa (2011), estudando coberturas comestíveis de amido de *S. burchelli* com glicerol e sem cobertura, encontrou teores superiores de SS para morangos variando de 7,60 a 12,93 °Brix.

Firmeza é a resistência do fruto à penetração. Dentre as principais mudanças que ocorrem no morango durante o período de armazenamento, está a redução da firmeza (VICENTE et al., 2005). Segundo Costa (2009), a senescência do morango ocorre pelo amolecimento do mesmo, resultado da degradação da lamela média da parede celular do parênquima cortical das células. Outras características que influenciam a firmeza do fruto são a força da parede celular, contato célula-célula e turgor celular (HARKER et al., 1997).

Foi possível perceber que o uso de coberturas comestíveis contribuiu para a textura dos frutos, uma vez que os morangos recobertos apresentaram os maiores valores de firmeza. Estes valores foram de $1,83 \pm 0,39$ a $2,50 \pm 0,64$ N para os filmes com coberturas. Já o filme controle apresentou textura de $1,52 \pm 0,33$ N.

Zhang et al. (1998) verificaram que morangos e framboesas apresentaram maior firmeza quando cobertos com quitosana. A aplicação da cobertura de quitosana em pêssegos também resultou na manutenção de sua firmeza (LI; YU, 2000).

Segundo Brackmann, Hunsche e Balem (1999), a espessura dos filmes diminui as trocas gasosas, aumenta a concentração de CO_2 na embalagem e resulta no aumento da vida pós-colheita das frutas. Concentrações elevadas de CO_2 podem ocasionar um aumento ou manutenção da firmeza do morango armazenado em baixas temperaturas (EL-KAZZAZ; SOMMER; FORTLAGE, 1983).

Ponce et al. (2008) avaliaram as alterações físico-químicas de morangos submetidos ao processamento mínimo, em frutos embalados e recobertos com uma e duas camadas de filme PVC. Estes apresentaram uma perda de 45 e 9,8% de textura, enquanto aqueles embalados com três e quatro camadas de filme PVC apresentaram um aumento de 6,46 e 0,45% na firmeza, respectivamente.

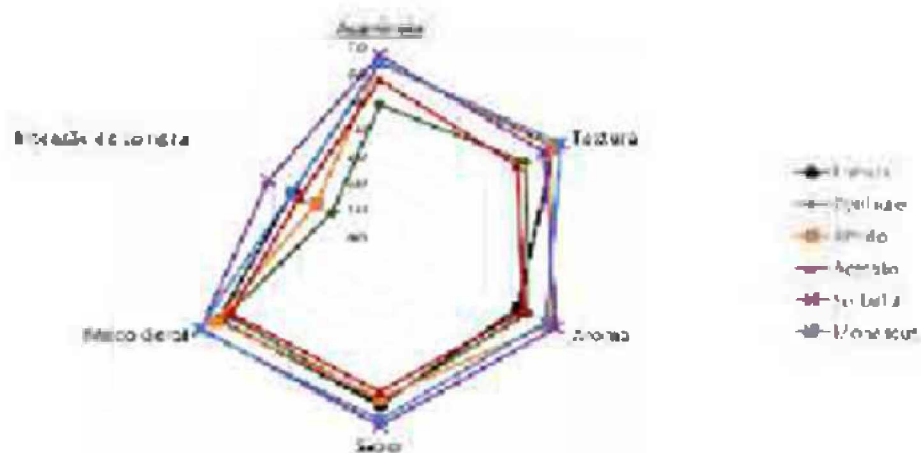
5.2. Análise Sensorial

Os resultados para a avaliação sensorial dos morangos do 3° e 10° dias de armazenamento estão apresentados nas figuras 15 e 16 respectivamente. Estão representados por gráficos radar (tipo arranha), que foram utilizados para mostrar o perfil hedônico das amostras de morangos.

Análise da textura em morangos com coberturas tiveram maior aceitação, com exceção de morangos recobertos com acetato, quando comparados a morangos sem cobertura. Os morangos recobertos com filmes de amido de mandioca e amido de mandioca com pigmento Monascus obtiveram médias de aceitação igual e superior aos morangos frescos,

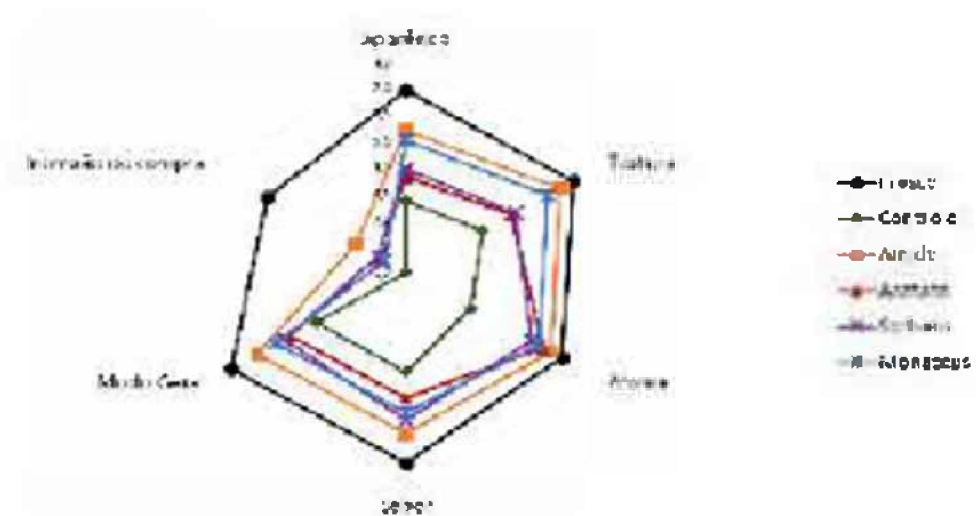
respectivamente. Este resultado pode ser explicado com os resultados dos testes mecânicos de textura, onde a amostra coberta apresentou retardamento na perda de textura, considerando que morangos no 5º dia de armazenamento têm acidez próxima aos de morangos frescos. Resultados semelhantes foram encontrados por Carvalho (1999), Pakkouri e Grassi (2003), que apresentaram morangos com recobrimento comestível armazenados por 10º dia. Estes foram abaixo do parâmetro de textura, considerando que a média limite da acidez seja 4,5.

Figura 15 – Valores hedônicos para atributos das amostras de morangos após 5 dias de armazenamento



Fonte: Propriet.

Figura 16 – Valores hedônicos para atributos das amostras de morangos após 10 dias de armazenamento



Fonte: Propriet.

Assim, pode-se afirmar que estes resultados confirmam que o uso de coberturas comestíveis é eficaz na conservação da textura dos frutos em longos períodos. Mais uma vez, coberturas produzidas a partir de amido tiveram desempenho superior quando comparado a morangos recobertos com amido modificado. As frutas recobertas com amido modificado tiveram desempenho inferior pela perda maior de umidade, assim murcharam quando comparados aos demais testes.

Pelos resultados do atributo ‘aroma’, avaliado sensorialmente, foi possível perceber que morangos que estavam recobertos conseguiram manter o aroma da fruta. Morangos recobertos com coberturas de amido de mandioca, amido de mandioca com pigmento Monascus e acetato de amido de mandioca com sorbato de potássio apresentaram as maiores médias 6,3, 6,3 e 6,7, respectivamente, implicando que, para esse parâmetro são mais eficazes. Este resultado é condizente ao encontrado por Velickova et al. (2013) que apresentaram resultados de morangos recobertos com quitosana e cera de abelha. O aroma dos morangos sem cobertura foi acentuadamente afetado pelo armazenamento e, ao 10º dia de armazenamento gerou repúdio aos provadores que deram uma nota média de 2,7.

Os resultados de ‘sabor’ de todas as amostras apresentaram os valores médios de 5,9; 6,3; 5,7; 7,0 para respectivamente amido de mandioca, amido de mandioca com pigmento Monascus, acetado de amido e acetato de amido com sorbato de potássio. Morangos que foram recobertos com adição de conservantes, amido com pigmentos Monascus e acetato com sorbato, apresentaram maior aceitação quanto ao sabor. Diante disso, pode-se concluir que o uso de coberturas comestíveis, até mesmo com adição de conservantes, não altera o sabor característico do morango. Entretanto, no trabalho de Tanada-Palmu et al. (2005) os morangos recobertos com glúten em combinação com cera de abelha, ácido esteárico e ácido palmítico não foram rejeitados no 10º dia, apenas os morangos utilizados como controle foram rejeitados pelos provadores. Os autores explicaram que os morangos recobertos têm diminuição do seu metabolismo, assim não desenvolveram sabor de podre ao 10º dia, e logo receberam notas mais altas. Portanto, pode-se concluir que o uso de coberturas comestíveis também é eficaz na conservação do sabor.

O resultado do atributo ‘modo geral’ reproduz com apenas uma nota a impressão global do consumidor em relação aos parâmetros que são avaliados individualmente. Tanto ao 3º dia quanto ao 10º dia de armazenamento, os morangos utilizados como controle receberam as menores notas. Morangos recobertos por amido com adição de pigmento Monascus, ao 3º dia de armazenamento, obtiveram a maior média na avaliação de modo geral. Assim, percebe-

se que os parâmetros de aparência e textura são os principais influenciadores. Além disso, somente morangos recobertos com acetato sem conservante tiveram média inferior ao fresco. Diante disso, morangos com recobrimento comestível ao 3º dia de armazenamento foram superiores a morangos frescos. Já os morangos no 10º dia de armazenamento apresentaram diferença significativa entre os recobertos e o fresco.

Por fim, também foi avaliado o atributo ‘intenção de compra’. Esta é intimamente relacionada à aparência do produto. Os morangos sem cobertura obtiveram o menor valor de intenção de compra, quando comparado às outras amostras, independente do período de armazenamento, com destaque para o 10º dia de armazenamento em que os resultados foram os mais baixos. Ao contrário do que seria esperado, a intenção de compra de morangos frescos (3,3) foi inferior a morangos no 3º dia de armazenamento com uso de coberturas comestíveis de acetato com sorbato de potássio (4,2).

Diante disso, é nítido que o uso de coberturas é considerado viável para extensão da vida-de-prateleira de morangos, visto que em muitos parâmetros, os morangos no 3º dia de armazenamento têm aceitação superior aos morangos frescos.

Garcia (2009) considera que a nota limite de aceitação para o consumidor é 4,5, assim, morangos com médias superiores a 4,5 são aceitos pelo consumidor, e com médias inferiores são rejeitados. Neste contexto, para o estudo realizado neste trabalho, morangos recobertos ao 10º dia de armazenamento seriam aceitos pelo consumidor em todos os quesitos avaliados. Portanto, comprova que o uso de coberturas comestíveis é eficaz na extensão da vida-útil de morangos.

5.3. Análises Microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas de bactérias psicotróficas e bactérias mesófilas são apresentados nas tabelas 2 e 3, respectivamente. Segundo os resultados apresentados, observou-se uma variação no crescimento de bactérias psicotróficas nos 19 dias de armazenamento para todas as coberturas testadas, inclusive no controle. Isto pode ser explicado pela elevada atividade de água existente ainda nestes dias de armazenamento.

Tabela 2 - Crescimento de bactérias Mesófilas nos 19 dias de armazenamento, dados apresentados em UFC g⁻¹

Tipo de Filme	Dias de Armazenamento					
	0° (10 ²)	3° (10 ²)	7° (10 ²)	10° (10 ²)	15° (10 ²)	19° (10 ²)
CO	25,00±0,00	390±314	400±200	1100±557	66,7±57,7	100±100
AC	25,00±0,00	437±203	267±208	367±306	133±57,7	1270±252
AM	25,00±0,00	1930±694	300±200	200±200	66,7±115	167±115
MO	25,00±0,00	733±462	100±100	0,00±0,00	0,00±0,00	33,3±57,7
SO	25,00±0,00	1260±1100	33,3±57,7	66,7±57,7	133±153	133±153

CO = sem cobertura, AC = cobertura comestível de amido com Acetato, AM = cobertura comestível com Amido, MO = cobertura comestível de amido com Monascus e SO = cobertura comestível de amido com Sorbato de Potássio.

Tabela 3 - Crescimento de bactérias Psicotróficas nos 19 dias de armazenamento, dados apresentados em UFC g⁻¹

Tipo de Filme	Dias de Armazenamento					
	0° (10 ²)	3° (10 ²)	7° (10 ²)	10° (10 ²)	15° (10 ²)	19° (10 ²)
CO	0,23±0,21	0,30±0,10	0,27±0,06	0,73±0,06	1,00±0,44	0,40±0,10
AC	7,33±0,49	3,63±1,12	0,53±0,29	2,60±0,71	0,60±0,36	2,53±1,01
AM	3,40±1,74	0,60±0,46	0,20±0,00	0,83±0,31	0,33±0,12	3,60±2,19
MO	1,93±1,67	2,83±1,42	0,80±0,27	0,47±0,06	0,60±0,27	2,80±1,11
SO	1,20±0,20	0,53±0,52	0,93±0,31	0,87±0,29	1,53±0,12	3,33±1,15

CO = sem cobertura, AC = cobertura comestível de amido com Acetato, AM = cobertura comestível com Amido, MO = cobertura comestível de amido com Monascus e SO = cobertura comestível de amido com Sorbato de Potássio.

Neste contexto, observa-se que do 7° ao 19° dia não houve aumento logarítmico, podendo ser relacionado com a perda de água durante a vida de prateleira deste produto. Segundo estudos realizados por Silva e Schmidt (2015) que estudaram caracterização físico-química de morangos com coberturas similares às utilizadas neste trabalho, apresentaram progressiva perda de massa dos frutos, sendo que morangos sem coberturas perderam 9% e morangos com coberturas perderam 7%. Resultados semelhantes foram encontrados por Tanada-Palmu e Grosso (2005) em morangos recobertos com filmes de glúten de trigo. De acordo com Chiumarelli et al. (2011) um menor valor de perda de água em frutos recoberto se deve às películas que dificultam a perda de água do morango. Outro fator que pode ser considerado para o crescimento destes microrganismos, é o fato de todos os morangos das análises terem sido estocadas na mesma geladeira, podendo ter havido uma contaminação entre as amostras, conforme apresentado na figura 14.

Para Tavares (2015), que trabalhou com morangos higienizados e recobertos com filmes de quitosana com 0,5% e 1,0%, houve crescimento de mesófilas entre 0,10×10³ a

$0,23 \times 10^3$ UFC/g, crescimento de psicrotróficas entre $0,03 \times 10^3$ a $2,00 \times 10^3$ UFC/g. Estes resultados são semelhantes aos encontrados neste trabalho. Estes autores explicam que o baixo crescimento microbiano se dá a toxicidade da quitosana para este tipo de microrganismos.

Observou-se que na microbiota mesófila no 3° dia de armazenamento, morango recoberto com sorbato de potássio e monascus apresentou alta contagem microbiana, porém entre o 7° e 10° dia, estes valores reduziram significativamente comparando com os morangos recobertos com filmes de amido e acetato. Isto se explica devido ao monascus e o sorbato de potássio possuir ação antimicrobiana.

Comparativamente, morangos avaliados por Ponce et al. (2008), os quais foram higienizados com água destilada, houve menor contaminação em relação aos resultados de mesófilos (microbiota aeróbica) e de fungos e bolores com os apresentados neste estudo, obtendo valores $5,2 \pm 0,87 \times 10^2$ e $5,8 \pm 1,20 \times 10^2$ UFC/g. Estudos realizados por Tavares (2015), com morangos cobertos por 0,5% e 1,0% de quitosana, mostraram que durante o armazenamento houve maiores contagens de fungos e bolores nas amostras sem quitosana e ocorreu uma redução (UFC) de fungos e leveduras nos morangos revestidos com 0,5% e 1,0%.

De acordo com dados mostrados na tabela 4, foi possível observar que morangos recobertos com coberturas a base de Monascus e Sorbato de potássio foram os que obtiveram melhores resultados. No entanto morangos sem cobertura e os recobertos com acetato atingiram maior crescimento de enterobactérias no 7° dia de armazenamento.

Tabela 4 - Crescimento de Enterobactérias nos 19 dias de armazenamento, dados apresentados em UFC g⁻¹

Tipo de Filme	Dias de Armazenamento					
	0° (10 ²)	3° (10 ²)	7° (10 ²)	10° (10 ²)	15° (10 ²)	19° (10 ²)
CO	7,67±3,08	16,0±8,19	493±208	16,7±20,8	23,3±40,4	3,33±5,77
AC	8,70±2,91	21,0±9,54	623±847	43,3±28,9	13,3±15,3	73,3±40,4
AM	4,97±2,93	154±83,5	33,3±5,77	43,3±20,8	10,0±17,3	20,0±10,0
MO	3,70±2,88	25,0±14,5	13,3±11,5	13,3±11,5	0,00±0,00	0,00±0,00
SO	2,77±1,66	13,7±21,1	0,00±0,00	3,33±5,77	40,0±17,3	10,0±17,3

CO = sem cobertura, AC = cobertura comestível de amido com Acetato, AM = cobertura comestível com Amido, MO = cobertura comestível de amido com Monascus e SO = cobertura comestível de amido com Sorbato de Potássio.

Os resultados do crescimento de fungos e levedura são apresentados na tabela 5. Segundo a RDC 12/01 não são estabelecidos limites para bolores e leveduras em frutas e produtos minimamente processados, no entanto, alimentos com contagens microbianas acima de 10^5 e 10^6 UFC/g, são considerados impróprios para o consumo humano, os quais devem ser descartados (VERZELETTI, FONTANA e SANDRI, 2010). De acordo com os dados avaliados, a literatura e legislação citada, foi possível observar que morangos revestidos com acetato, amido e controle (sem cobertura), ficam impróprios para o consumo após o 7° dia de armazenamento. Porém, os morangos testados, não são minimamente processados e assim, espera-se que o consumidor faça uma pré-higienização antes de consumi-los.

Tabela 5 - Crescimento de Fungos Filamentados e Leveduras nos 19 dias de armazenamento, dados apresentados em UFC g⁻¹

Tipo de Filme	Dias de Armazenamento					
	0° (10 ³)	3° (10 ³)	7° (10 ³)	10° (10 ³)	15° (10 ³)	19° (10 ³)
CO	12,0±6,24	8,67±4,62	577±254	12200±4860	0,03±0,06	33,3±57,7
AC	45,7±13,6	63,7±30,3	2000±200	2330±808	1,63±0,85	33,3±57,7
AM	41,7±15,0	47,0±23,3	190±130	7430±3250	0,20±0,10	66,7±57,7
MO	26,0±12,3	72,0±45,4	36,7±30,6	66,7±57,7	0,57±0,35	66,7±5,77
SO	250±0,00	54,0±19,5	50,0±10,0	9070±1220	1,13±1,27	2670±208

CO = sem cobertura, AC = cobertura comestível de amido com Acetato, AM = cobertura comestível com Amido, MO = cobertura comestível de amido com Monascus e SO = cobertura comestível de amido com Sorbato de Potássio.

Para o 7° dia, a contagem de fungos e bolores foi $3,6\pm3,0\times10^3$ e $5,0\pm1,0\times10^3$ UFC/g para os filmes de amido com adição de monascus e de sorbato de potássio, respectivamente. Similarmente para o dia 15, a contagem de fungos e bolores foi $0,06\pm0,03\times10^3$ e $0,11\pm0,12\times10^3$ UFC/g para os filmes de amido com adição de monascus e de sorbato, respectivamente. Estes resultados são semelhantes aos apresentados por Kempka et al. (2012), que obtiveram $7,0\times10^3$ e $1,5\times10^3$ para crescimento de fungos e bolores no 8° e 12° dia de armazenamento em morangos recobertos com filmes de colágenos hidrolisado adicionado de sorbato de potássio. Vu et al. (2011) com a adição de óleos essenciais de limoneno ou hortelã-pimenta a revestimento de quitosana modificada aplicado a morangos, observou deterioração fúngica de 80% e 100%, respectivamente, em 12 dia.

Observa-se que a partir do 15° dia de armazenamento houve uma diminuição no crescimento microbiano. Isto pode ser explicado de duas formas, a primeira pela redução do teor de umidade do fruto e a segunda pela anaerobiose formada pela película sobre o fruto.

Segundo Borges et al. (2013), que estudaram a conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e óleo essencial de sálvia, a deterioração fúngica dos morangos aumentou significativamente durante o armazenamento. Os revestimentos compostos de óleo essencial de sálvia e goma xantana e sálvia inibiram até o quinto dia o crescimento fúngico. Estes efeitos foram, provavelmente, devidos aos compostos antimicrobianos da sálvia e às condições anaeróbicas propiciadas pelo revestimento, que desfavorecem o crescimento fúngico.

De modo geral, foi possível observar que morangos revestidos com filmes a base de sorbato de potássio e com monascus, obteve melhores resultados. Houve algumas oscilações, porém pode ser explicada pelo fato de que cada morango tem metabolismo e contagem microbiana inicial diferente (GARCIA, 2009).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), os Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos, como morangos e produtos frescos similares, in natura, selecionados ou não, tem tolerância de 2×10^3 UFC para coliformes a 45 °C/g e ausência para *Salmonella* sp./25g. No presente estudo ocorreu ausência de *Salmonella* sp., em todos os tratamentos, inclusive o controle. Os laudos das análises microbiológicas de *Salmonella* sp estão apresentadas no anexo I.

Os veículos e meios propícios à contaminação de morangos por coliformes podem ser a água de irrigação, o solo e a manipulação dos frutos (KEMPKA et al., 2012). Assim, estudo da presença ou não de coliformes totais e fecais foram realizados. A tabela 6 apresenta os resultados para presença e ausência de *salmonella* sp, positivo ou negativo para coliformes totais à 37 °C e coliformes termo tolerantes à 45° C.

Observa-se que o coliformes totais à 45 °C foram presentes em todos os tipos de coberturas e nos morangos sem coberturas. Os frutos recobertos com amido e sem cobertura tiveram crescimento após o 10° dia de armazenamento. Os demais testes tiveram crescimento de coliformes totais a partir do 7° dia.

Para confirmação de Coliformes fecais, segundo FORSYTHE (2002), utiliza-se o caldo EC (*Escherichia coli*), por eles serem definidos com os coliformes capazes de fermentar a lactose, com produção de gás, no período de 48 horas, a 45°C. A detecção de EC é importante em alimentos, pois este microrganismo é um patógeno responsável por doenças transmitidas por alimentos (DTA's).

Tabela 6 – Presença e ausência de *Salmonella* sp, positivo ou negativo para Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes

A mostra	Dias de armazenamento	Salmonella Sp	Contagem de coliformes totais	Contagem de coliformes temotolerantes
CO	0	NR	Negativo	Negativo
	3	NR	Negativo	Negativo
	7	NR	Negativo	Positivo
	10	Ausente	Positivo	Positivo
	15	NR	Positivo	Positivo
	19	NR	Positivo	Negativo
AC	0	NR	Negativo	Negativo
	3	Ausente	Negativo	Negativo
	7	NR	Positivo	Positivo
	10	Ausente	Positivo	Negativo
	15	NR	Positivo	Negativo
	19	NR	Positivo	Negativo
AM	0	NR	Negativo	Negativo
	3	Ausente	Negativo	Negativo
	7	NR	Negativo	Negativo
	10	Ausente	Positivo	Negativo
	15	NR	Positivo	Negativo
	19	NR	Positivo	Negativo
MO	0	NR	Negativo	Negativo
	3	Ausente	Negativo	Positivo
	7	NR	Positivo	Negativo
	10	Ausente	Positivo	Negativo
	15	NR	Positivo	Negativo
	19	NR	Positivo	Negativo
SO	0	NR	Negativo	Negativo
	3	Ausente	Negativo	Negativo
	7	NR	Positivo	Negativo
	10	Ausente	Positivo	Negativo
	15	NR	Positivo	Positivo
	19	NR	Positivo	Negativo

CO = sem cobertura, AC = cobertura comestível de amido com Acetato, AM = cobertura comestível com Amido, MO = cobertura comestível de amido com Monascus, SO = cobertura comestível de amido com Sorbato de Potássio e NR = não realizado

A Presença de EC foi verificada em todas as coberturas estudadas, porém no controle foi verificada a presença a partir do 7º dia de armazenamento. Para os demais testes de recobrimentos, observou-se que aleatoriamente 1 dia de armazenamento foi positivo. Segundo Tavares (2015) a ausência para coliformes comprovam os cuidados higiênico-sanitários desde o campo e durante o armazenamento e processamento (procedimento de desinfecção com hipoclorito de sódio), sendo de extrema importância para aquisição de um produto seguro, apresentando baixa contagem microbiana.

Com uma análise de modo geral, foi possível observar que morangos sem cobertura não há presença visível de fungos e bolores de forma acentuada porém, houve grande perda de água. Os morangos recobertos com os diversos filmes comestíveis, conseguiram manter algumas características como atividade de água e firmeza da parede como mostra a figura 17, porém ficaram mais propícias a proliferação dos fungos e leveduras. Todas as amostras ao 19º dia de armazenamento ficam impróprias para o consumo, devendo ser descartadas.

Figura 17 – Resultado final após 19º dia de armazenamento.



Morangos revestidos com filmes à base de sorbato de potássio e com monascus, obtiveram melhores resultados em vários aspectos, isso devido sua ação antimicrobiana. Houve algumas oscilações nos resultados e análises, porém, podem ser explicadas pelo fato de que cada morango tem metabolismo e contagem microbiana inicial diferente (GARCIA, 2009) e até mesmo contaminação cruzada, devido armazenado na mesma geladeira (por possuir circulação de ar no interior da geladeira).

6 – CONCLUSÃO

Nas análises físico-químicas não houve variação significativa no pH. Na acidez titulável houve variação de 0,0017 kg de ácido cítrico. Já o índice de maturação variou de 14,146 a 17,170, tendo melhor aceitabilidade pelo consumidor. A atividade de água ficou em torno de 0,998. A umidade variou entre 91,28% a 92,78%. Os sólidos solúveis variaram entre 6,3 a 7,1 °Brix para morangos recobertos com filmes comestíveis. Nota-se que esses filmes comestíveis contribuem para maior firmeza dos frutos. Os valores de firmeza variaram entre $1,83 \pm 0,39$ a $2,50 \pm 0,64$ N para morangos com cobertura comestível e $1,52 \pm 0,33$ N para morangos sem cobertura.

Os morangos recobertos com filmes comestíveis tiveram melhor aceitação na avaliação sensorial.

Devido à alta atividade de água, houve crescimento microbiano na maior parte das amostras entre os dias 0 e 7° de armazenamento. No entanto, do 7° ao 19° dia de armazenamento não houve aumento logarítmico para a maioria das amostras, podendo ser levado em consideração uma possível contaminação entre as amostras, que foram estocadas na mesma geladeira.

Morangos recobertos com cobertura a base de amido, acetato e sem cobertura ficam impróprios para o consumo após o 7° dia de armazenamento.

Após o 15° dia de armazenamento houve redução no crescimento microbiano para a maioria das amostras, devido à redução do teor de umidade dos frutos e pela anaerobiose formada pela película sobre o fruto.

Em geral morangos recobertos com filmes a base de monascus e sorbato de potássio apresentaram melhores resultados, devido sua ação antimicrobiana.

As variações nos resultados podem ter ocorrido por contaminação ou algum erro experimental, isto implica novos testes e novas análises para obter melhores resultados.

ANEXOS

Resultados obtidos pelo laboratório CELASA para as análises de *Salmonella* sp, realizado nas amostras de morango sem cobertura, morango recoberto com filme de amido, acetato, sorbato de potássio e monascus.

Amostra	Dias de armazenamento	Método de ensaio	Valor de referência	Resultado	Unidade de medida
CO	5°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g
	10°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g
AC	3°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g
	10°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g
AM	3°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g
	10°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g
MO	3°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g
	10°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g
SO	3°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g
	10°	IN 62/2003	N.A	Ausente	UFC/25g

CO = sem cobertura, AC = cobertura comestível de amido com Acetato, AM = cobertura comestível com Amido, MO = cobertura comestível de amido com Monascus, SO = cobertura comestível de amido com Sorbato de Potássio, IN = instrução normativa, N.A = não se aplica, UFC = unidade de formação de colônias.

REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, E. M. de. **Caracterização física, química e microbiológica de morango, alface e cenoura orgânicos**. 2009. 124f. Dissertação (Mestrado) - Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

ALVES, F. G. **Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro mantidos sob temperatura refrigerada após a aplicação pré-colheita de produtos biológicos**. 2009. 42 f. Dissertação (“Magister Scientiae”) – Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2009.

AOAC – Official **Methods of Analysis of AOAC International**. 16 th ed., Gaithersburg, 1999.

BARROS, J. F. M. **Desdobro e caracterização tecnológica das madeiras de Eucalyptus grandis Hill ex-Maiden e Eucalyptus cloeziana F. Muell para a indústria moveleira**. 2002. 54f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2002.

BERTAN, L.C. et al. Effect of fattyacids and ‘Brazilian elemi’ on composite films based on gelatin. **Food Hydrocolloids**, v.19, p.73–82, 2005.

BHUNIA, A. K. Biosensor and bio-based methods for the separation and detection of foodborne pathogens. **Advances in food and nutrition research**. New York. 2008, p. 1-44.

BOBBIO, A. P.; BOBBIO, F. O. **Química de processamento de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Livraria Varela, cap.10, p. 135-142. 2001.

BRACKMANN, A.; HUNSCHE, M.; BALEM, T. A. Efeito de filmes de PVC esticável e polietileno em morangos cv. Tangi. **Revista Brasileira de Agrociências**, v. 5 n. 2, p. 89-92, 1999.

BRASIL – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. **Normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos**. Brasília, 1965 Disponível em:<
<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/414d248047458a7d93f3d73fbc4c6735/DECRETO+N%C2%BA+55.871,+DE+26+DE+MAR%C3%87O+DE+1965.pdf?MOD=AJPERES>>
 Acesso em: 18 abr. 2016.

BRASIL – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - CNNPA nº 44, de 1977. **Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos**. Brasília, 1977. Disponível em : <
http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/44_77.htm> Acesso em: 18 Abr. 2016.

BRASIL – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - CNNPA nº 12, de 1978. **Normas e Padrões para Alimentos**. Brasília, 1978 Disponível em : <
http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12_78.htm>, Acesso em: 05 Mai. 2016.

BRASIL – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA ALIMENTOS.** Brasília, 2001 Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 03 Mai. 2016.

BRASIL. EMATER. **Dados confirmam que cultivo de morango cresce cada vez mais na agricultura familiar.** Belo Horizonte, 2011. Disponível em: http://www.emater.mg.gov.br/portal.cgi?flagweb=site_tpl_paginas_internas&id=7916#.VuVp5vkrLIU >Acesso em: 08 Mar. 2016.

BRASIL. EMBRAPA. **Pesquisa desenvolve embalagens anatômicas para frutas.** Brasília, 2016. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/portal/busca-de-noticias/-/noticia/10847708/pesquisa-desenvolve-embalagens-anatomicas-para-frutas>>. Acesso em: 08 Mar. 2016.

BRASIL. EMBRAPA. **Sistema de produção de morango para mesa na região da Serra Gaúcha e encosta superior do Nordeste.** 2005a. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Morango/MesaSerraGaucha/colheita.htm>>. Acesso em: 08 Mar. 2016.

BRASIL. EMBRAPA. **Teor de compostos fenólicos totais e atividade da enzima polifenoloxidase em morangos cv. 'camarosa' sob atmosfera controlada.** Pelotas, 2012. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/71473/1/Rufino-Fernando-flores-cantillano-3.pdf>>. Acesso em: 08 Mar. 2016.

BRASIL. EMBRAPA. **Manga: Teor de sólidos solúveis.** Brasília, 2005b. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia22/AG01/arvore/AG01_147_24112005115227.html>. Acesso em: 19 Mai. 2016.

BRASIL. INMETRO. **Ensaio Biológicos.** Mar./2013. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/laboratorios/rble/docs/CRL0298.pdf>> Acesso em: 16 Mai. 2016.

BORGES, C. D.; MENDONÇA, C. R. B.; ZAMBIAZI, R. C.; NOGUEIRA, D.; PINTO, E. M.; PAIVA, F. F. Conservação de morangos com revestimentos à base de goma xantana e óleo essencial de sálvia. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1071-1083, Sept./Oct. 2013.

CARVALHO, C.R.L.; MANTOVANI, D.M.B.; CARVALHO, P.R.N.; MORAES, R.M.N. **Análises Químicas de Alimentos.** Campinas: ITAL, 1990. 121p.

CARVALHO, H. A. **Utilização de atmosfera modificada na conservação pós-colheita da goiaba “Kumagai”.** 1999. 115 f. Tese (Doutorado), Escola de Agronomia de Lavras, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

CEREDA, M.P. **Propriedades gerais do amido, agricultura.** São Paulo: Fundação Cargill, 2001. v.1, p.13-204.

CHAMBI, H. N. M. **Desenvolvimento de filmes a partir de caseína e gelatina modificadas enzimaticamente com tripsina e transglutaminase.** 2004. 99f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: Ed. UFLA, 2005. 783 p.

CHIUMARELLI, M. **Aplicação de coberturas comestíveis à base de fécula de mandioca e cera de carnaúba em maçãs minimamente processadas**. 2011. 281 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

COSTA, C. S. da. **Coberturas à base de quitosana na qualidade pós-colheita de morangos cv. Aromas**. 2009. 107 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, RS, 2009.

DAROLT, M. R. Morango orgânico: opção sustentável para o setor. **Revista Campo & Negócios**. Ano II, N.34,2008. p. 58-61

EL-KAZZAZ, M. K.; SOMMER, N. F.; FORTLAGE, R. J. Effect of different atmospheres on postharvest decay and quality of fresh strawberry. **Phytopatology**, v. 73, n. 2, p. 282-285, 1983.

FABRE, C. E., G. GOMA e P. J. BLANC. Production and Food Applications of the red pigment material. **Symposia of Monascus-cultures and applications organized by "Institut National des Sciences Appliqués "**. Toulouse. p.8-10. July,1998.

FAKHOURI, F.M.; GROSSO, C. Efeito de coberturas comestíveis na vida útil de goiabas in natura (psidiumguajava l.) mantidas sob refrigeração. **Brazilian Journal: of food and technology**, [s.l.], v. 6, n. 2, p.203-2011, dez. 2003.

FINK-GREMMELS, J.; DRESEL, J.; LEISTNER, L. Use of monascus extracts as an alternative to nitrite in meat products. **Fleischwirtsch**, v.71, p.1184-1186. 1991.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Trad. Maria carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt – Porto Alegre: Artmed, 2002, p 216, 211.

GARCIA, L.C. **Aplicação de coberturas comestíveis em morangos minimamente processados**. 2009. 143 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária dos alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 629 p.

GROSS, K. C.; SAMS, C. E. Changes in cell wall neutral composition during fruit ripening: a species survey. **Phytochemistry, Oxford**, v.23, n.11, p.2457-2461, nov.1984.

HAJJAJ, H, et al. Medium-chain fatty acids affect citrinin production in the filamentous fungus *Monascus ruber*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.3, p.1120-1125, 2000.

HAJJAJ, H.; BLANC, P. J.; GROUSSAC, E.; URIBELARREA, J. L.; GOMA, G.; LOUBIERE, P. Kinetics analysis of red pigment and citrinina production by *Monascus ruber* as a function of organic acid accumulation. **Enzyme Microbial Technology**. v.27, p.619-625. 2000a.

HAJJAJ, H.; KLAEBE, A.; GOMA, G.; BLANC, P. J.; BARBIER, E.; FRANCOIS, J. Medium-chain fatty acids affect citrinin production in the filamentous fungus *Monascus ruber*. **Applied and Environmental Microbiology**. v.66, n.3, p.1120-1125. 2000b.

HAJJAJ, H.; KLAÉBE, A.; LORET, M. O.; TZÉDAKIS, T.; GOMA, G.; BLANC, P. J. Production and identification of N-Glucosylrubropunctamine and N-Glucosylmonascorubramine from *Monascus ruber* and occurrence of electron donor-acceptor complexes in these red pigments. **Applied and Environmental Microbiology**. v.63, n.7, p. 2671-2678. 1997.

HAMINIUK, C. W. I. et al. **Comportamento reológico de sistemas pécticos de polpas de frutas vermelhas**. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.1, p. 225-231. mar.2009.

HARKER, F.R.; et al. Texture of fresh fruit. **Hortic. Rev.**v, 20, p.121–224, 1997.

HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. et al. Effect of calcium dips and chitosan coating on postharvest life of strawberries (*Fragaria x ananassa*). **Postharvest Biology And Technology**, [s.l.], v. 39, n. 3, p.247-253, mar. 2006.

HUBER, D, J.; KARAKURT, Y.; JEONG, J. Pectin degradation in ripening and wounded fruits. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.13, n.2, p. 224-241, ago.2001.

JUNIOR, L. C. C. **Atmosfera controlada na conservação de morangos**. 2011. 121f. Tese (Doutorado em Ciências, Fitotecnia) – Universidade de São Paulo – Piracicaba, 2011.

KAWAMATA, S. Studies on sugar components for fruits by gas-liquid chromatography. **Bulletin Tokio Agricultural Experiment Station**, Tokyo, n.10, p. 53-63, 1997.

KEMPKA, A. P. et al., Desenvolvimento de cobertura à base de colágeno parcialmente hidrolisado, manitol e antimicrobianos aplicada em morangos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 30, n. 1, p. 53-64, jan./jun. 2012.

KILIKIAN, B. V.; OROZCO, S. F. B.; PEREIRA, D. G. Influência do pH na produção de pigmentos vermelhos e na morfologia de *Monascus purpureus* CCT 3802 em cultivo submerso. In: Simpósio Nacional de Fermentações, 4, 2003, Florianópolis. **Anais**. Florianópolis: UFSC, 2003.

KLUGE, A. A. et al. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. 2.ed .rev. e ampl. Lavras: Emopi, 2002. 214p.

LEITE, M. O. **Caracterização da qualidade nutricional, microbiológica, física e de vida útil pós-colheita de alface (*Lactuca sativa* L.) in natura, cultivadas por agricultura natural, hidropônica e método convencional, higienizadas e acondicionadas em atmosfera natural**. 2007. 97 f. Tese (Doutorado) - Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural de Rio de Janeiro. Seropédica. 2007.

LI, H., YU, T. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. **J. Sci. Food Agric**. v.81, p.269–274. 2000.

LIN, S. Y.; CHEN, K. S.; RUN-CHU, L. Organic esters of plasticizers affecting the water absorption, adhesive property, glass transition temperature and plasticizer permanence of Eudragit acrylic films. **Journal of Controlled Release**, v. 68, n. 3, p. 343-350, 2000.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. **Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 1, p. 137-156, jan./mar. 2010.

MANNING, G. **Biochemistry of fruit ripening**. Londres: Chapman & Hall, 1993. Cap.12, p.347-378

MAUGERI FILHO, F. M. Produção de polissacarídeos. **Biotecnologia industrial: processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: editora Edgard Blucher Ltda. V. 3, p. 125-154. 2001.

McHUGH, T. H.; KROCHTA, J. M. Milk-protein-based edible films and coatings. **Food Technology**, v. 48, n. 1, p. 97-103, 1994.

MENDES, F. M.. **Produção e caracterização de bioplásticos a partir do amido de batata**. 2009. 198f. Dissertação (Mestrado) Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos. 2009.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from feeling to instrumentation**. Brasil: MINOLTA Co. Ltda.,1994. 49p.

MOORTHY, S.N. Physicochemical and Functinal Properties of Tropical Tuber Starches. **A Review. Starch/Starke**, v.54, p.559-592, 2002.

MORAES, I. V. M. et al. **Características físicas e químicas de morango processado minimamente e conservado sob refrigeração e atmosfera controlada**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 28, n.2, p.274-281, abri./jun. 2008.

MOREIRA, A. N.; DEL PINO, F. A .B.; VENDRUSCOLO, C. T. Estudo da produção de biopolímeros via enzimática através da inativação e lise celular e com células viáveis de *Beijerinckia sp.* 7070. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, nº2, p. 300-305, 2003.

MORITZ, DENISE ESTEVES. **Produção do pigmento monascus por monascus ruber cct 3802 em cultivo submerso**. 2005. 150f. Tese (Doutorado) curso da Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2005.

MYLLARINEN, P.; et al. The crystallinity of amylose and amylopectin films. **Carbohydrate Polymers**, v.48, p.41-48, 2002.

NEETA B. Gol, POOJA R. PATEL, T.V. Ramana Rao. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. **Postharvest Biology and Technology** 85, p. 185-195, 2013.

OLIVAS, G.I.I.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. Edible films and costing for fruits and vegetables. In: HUBER, K. C. e EMBUSCADO, M. E. (Ed.). **Edible Films and coating for foods applications: Springer**, New York, p.211-244, 2009.

OLIVEIRA, S. M. A. et al. **Patologia pós-colheita: frutas, oleícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 855p.

OUATTARA, B.; SIMARD, R.E.; PIETTE, G.; BÉGIN, A.; HOLLEY, R.A. Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 65, p.768-773, 2000.

PARK, S.; LEE, B.I.; JUNG, S.T., PARK, J.H. Biopolymer composite films based on karrageenan and chitosan. **Materials Research Bulletin**, v.36, p.511–519, 2001.

PRATES, M. F. O.; ASCHERI, D. P. R. Efeito da cobertura de amido de fruta-de-lobo e sorbitol e do tempo de armazenamento na conservação pós-colheita de frutos de morango. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 29, n. 1, jan./jun. 2011.

PELLEGRINO. Luciana. ABRE. **Embalagem**. Disponível em: <<http://www.abre.org.br/setor/apresentacao-do-setor/a-embalagem/>>. Acesso em: 12 de marco 2016.

PONCE, A. R. et al. Características físico-químicas e microbiológicas de morango minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 2008.

REIS, L. C. B. **Formulação e caracterização de filmes biodegradáveis de fécula de mandioca incorporados com polpa de manga e extrato de erva-mate, e seu efeito na preservação de alimentos**. 2011, 151f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Escola de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

RIBEIRO, C. et al. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. **Postharvest Biology and Technology**, p. 63–7, 2007.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. São Paulo: Edgard Blücher, 2004. 184 p.

RIGO, L. N. **Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis**. 2006. 130 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2006.

SANTOS. Margareth. DIA DE CAMPO. **Nova embalagem para transporte de morangos aumenta competitividade no mercado**. 2009. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=20360&secao=Vitrine>> Acesso em: 19 Mar. 2016.

SCHLEMMER, D. **Preparação, Caracterização e degradação de blendas de poliestireno e amido termoplástico usando glicerol e óleo de buriti (Mauritia flrxuosa)**. 2007. 94f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SCHLIMME, D. V. Marketing lightly processed fruits and vegetables. **hortScience**. Alexandria, v. 30, n. 1, p 15-17. 1995.

SILVA, M. C. R. da; SCHMIDT, V. C. R. Avaliação da vida - de - prateleira de morangos recobertos com biofilme de acetato de amido e acetato de amido com adição de sorbato de potássio. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 11,. 2015. Campinas – SP, **Anais eletrônicos** - São Paulo: Blucher Proceedings. Disponível em <<http://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/avaliacao-da-vida-de-prateleira-de-morangos-recobertos-com-biofilme-de-acetato-de-amido-e-acetato-de-amido-com-adio-de-sorbato-de-potssio-19883>> acesso em 12 de maio de 2016.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. **Manual de métodos de análises microbiológicas de água**. Campina: ITAL, 2000. 99p

SILVA, P. A.. **Manutenção da qualidade de morangos submetidos ao 1 – MCP e armazenados em temperatura ambiente e refrigerada**. 2010. 152 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Agroquímica / Agrobioquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SILVA, P.A. **Qualidade de morangos cultivados na região de Lavras, MG, armazenados em temperatura ambiente**. 2007. 71p. Dissertação (Mestrado) em Agroquímica e Agrobioquímica na Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2007.

SRINIVASA, P.C.; RAMESH, M.N.; THARANATHAN, R.N. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, 2007.

TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragariaananassa*) quality. **Postharvest Biology And Technology**, [s.l.], v. 36, n. 2, p.199-208, maio 2005.

TAVARES, T. S.. Revestimento de quitosana na manutenção da qualidade pós-colheita de morangos. 2015. 134 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Agroquímica em Agroquímica – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2015.

THÉ, P. M. et al. **Modificações na atividade enzimática em abacaxi “Smooth Cayenne” em função da temperatura de armazenamento e do tecido de maturação**. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 25, n.2, p. 364-370, mar./abr. 2001.

VALSECHI, O. A. **Microbiologia dos Alimentos**. Araras. Universidade Federal de São Carlos – Centro de Ciências Agrárias, 2006. 49 p. Apostila.

VARGAS, M., ALBORS, A., CHIRALT, A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C., 2006. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings. **Postharvest Biol. Technol.** 41, 164–171.

VEIGA-SANTOS, P.; OLIVEIRA, L. M.; CEREDA, M.P.; ALVES, A. J.; SCAMPARINI, A. R. P. Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: effect of additives and deacetylated xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 2, p. 341-349, 2005.

VELICKOVA, E. et al. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. **LWT - Food Science and Technology**. p. 80-92. 2013.

VENDRUSCOLO, F. **Produção de pigmento vermelho a partir de pigmento laranja produzido por monascus ruber cct 3802**. 2009. 245 f. Tese (Doutorado) - Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2009.

VERZELETTI, A.; FONTANA, R. C.; SANDRI, I.G. Avaliação da vida-de-prateleira de cenouras minimamente processadas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.21, n.1, p. 87-92, 2010.

VICENTE, A. R., COSTA, M. L., MARTINEZ, G. A., CHAVES, A. R., & CIVELLO, P. M. Effect of heat treatments on cell wall degradation and softening in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 38, p.213-222,2005.

VILLADIEGO, A. M. D. et al. Filmes e revestimento comestíveis na conservação de produtos alimentícios. **Revista Ceres**, v.52, n.300, p.221-244, 2005.

VU, K. D.; HOLLINGSWORTH, R. G.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. **Food Research International**, Barking, v. 44, n. 1, p. 198–203, 2011.

WANG, S, et al. Production of antimicrobial compounds by *Monascus purpureus* CCRC31499 using shrimp and crab shell powder as a carbon source. **Enzyme and Microbial Technology**, v.31, p.337–344, 2002.

WATERHOUSE, A.L. Determination of Total Phenolics. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**: John Wiley & Sons, 2001.

ZHANG, D., Quantick, P., Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. **J. Hortic. Sci. Biotechnol.** v..73,p.763–767, 1998.